

**Synthese und Charakterisierung von speziellen makromolekularen  
Architekturen basierend auf Poly( $\gamma$ -benzyl-L-glutamat)  
als stäbchenförmiges Modellpolymer**

Von der Fakultät für Lebenswissenschaften  
der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina  
zu Braunschweig

zur Erlangung des Grades einer  
Doktorin der Naturwissenschaften

(Dr. rer. nat.)

genehmigte

D i s s e r t a t i o n

von Maria Stern  
aus Berlin

1. Referent:

2. Referent:

eingereicht am:

mündliche Prüfung (Disputation) am:

Druckjahr 2013

Professor Dr. Henning Menzel

apl. Professor Dr. Hans-Joachim Jördening

11.02.2013

21.06.2013

## **Vorveröffentlichungen der Dissertation**

Teilergebnisse aus dieser Arbeit wurden mit Genehmigung der Fakultät für Lebenswissenschaften, vertreten durch den Mentor der Arbeit, in folgenden Beiträgen vorab veröffentlicht:

## **Publikationen**

Stern, M., Jurjevic, S., Heise, A. & Menzel, H.: Synthesis of Polypeptide Based Rod-Coil Block Copolymers by Using TEMPO Based Bifunctional Initiator. Macromolecular Symposia 275-276: 67-72 (2009).

## **Tagungsbeiträge**

Stern, M., Steig, S., Heise, A. & Menzel, H.: Bifunctional Initiators for the Synthesis of Polypeptide Based Rod-Coil Block Copolymers. (Poster) International Symposium Microstructural Control in Free-Radical Polymerization, Clausthal (2008)

Stern, M., Niehoff A., Habraken G.J.M., Jurjevic, S., Heise, A. & Menzel, H.: Analytical Challenges in the field of rod-coil block copolymers. (Poster) 4<sup>th</sup> International Symposium on the Separation and Characterization of Natural and Synthetic Macromolecules (SCM-4), Amsterdam (2009)

Stern, M., Dempwolf, W. & Menzel, H.: Analytics and Synthesis of polypeptide based Materials of different Architectures. (Poster) 5<sup>th</sup> International Symposium on the Separation and Characterization of Natural and Synthetic Macromolecules (SCM-5), Amsterdam (2011)

Stern, M. & Menzel, H.: Supramolecular Architectures of Polypeptides (Poster) Bayreuth Polymer Symposium (BPS11), Bayreuth (2011)



## **Danksagung**

An erster Stelle möchte ich mich bei all denen bedanken, die durch ihre fachliche und persönliche Unterstützung zum Gelingen dieser Dissertation beigetragen haben.

Meinem Mentor Prof. Dr. Henning Menzel danke ich besonders für die Überlassung des interessanten Themas der Doktorarbeit sowie die Unterstützung und ständige Diskussionsbereitschaft während dieser Zeit. In diesem Zusammenhang möchte ich mich auch bei Prof. Dr. Jördening für die Übernahme des Korreferates bedanken.

Ich möchte mich auch herzlich bei Dr. Jana Falkenhagen für die zahlreichen LACCC-Messungen und für die Bereitschaft zur Diskussion der Ergebnisse bedanken, die ganz wesentlich zu meiner Arbeit beigetragen haben. Dr. Wibke Dempwolf danke ich herzlich für die AFM-Messungen. Zudem möchte ich mich besonders bei Anita Scherbarth für ihre Hilfe bei der Betreuung der GPC-Anlage und für die Unterstützung bei den vielen GPC-Messungen bedanken.

Auch möchte ich mich natürlich bei allen Mitarbeitern des Arbeitskreises Menzel für das gute Klima, die Hilfsbereitschaft und die gute Zusammenarbeit bedanken. Insbesondere möchte ich mich bei Dr. Wibke Dempwolf für ihre Diskussionsbereitschaft bei thematischen Problemen, ihre ständige Unterstützung sowie für die lustige Zeit während der beiden Tagungsaufenthalte in Amsterdam bedanken. Für die fachlichen Diskussionen danke ich besonders Dr. Ansgar Niehoff und Robert Mildner, die mir sehr geholfen haben. Meinen lieben Bürokollegen Sajjad und Ansgar danke ich für das ruhige und angenehme Arbeitsklima. Den beiden Nachfolgern des Büros, Robert und Christoph, danke ich für die lustige und witzige Zeit. Es gab stets viel zu lachen. In diesem Zusammenhang möchte ich mich bei Marco Waßmann für die nette Aufnahme in seinem Zweierbüro für das Zusammenschreiben der Arbeit bedanken. Bei Bianca Tiedemann bedanke ich mich für die Durchführung der DSC-Messungen. Den Sekretärinnen Gabi Schirmer und Christa Vogel danke ich recht herzlich für die Hilfe bei allen möglichen formalen Fragen und Problemen.

Ich möchte mich auch herzlich bei den Forschungspraktikanten Sven Hartwig, Christoph Hadler und Alexander Linde für den tollen Einsatz in den Praktika bedanken, die Ergebnisse

haben zum Gelingen der Arbeit beigetragen. Vielen Dank auch an Carolin, Giani, René, Fanru, Daniel und Michaela für ihre tatkräftige Mitarbeit als Hiwis.

Für die Durchsicht des Manuskriptes danke ich Dr. Simone Jurjević und Dr. Wibke Dempwolf.

Ganz besonders möchte ich mich bei unserer Richtbankrunde in der ehemaligen Werkstatt bei Rolf Harrendorf, Anita Scherbarth, Birgit Niehoegen, Dr. Dirk Eiting, Dr. Magda Sluszniak, Dr. Cornelia Pfaffenroth, Dr. Claudia Grote und Dipl.-Chem. Kristin Voiges bedanken. Insbesondere unsere gruppenspezifischen Veranstaltungen wie der Ausflug mit dem Bus, dem lustigen Grillabend sowie den vielen Abenden an der Richtbank werden mir stets in Erinnerung bleiben. Vielen Dank Euch dafür!

Mein ganz besonderer Dank gilt Dr. Magda Sluszniak, die mich während des Studiums und der Promotion als gute Freundin begleitet hat. Ich möchte dir für die gute Freundschaft innerhalb und auch außerhalb des Institutslebens danken. An dieser Stelle möchte ich mich auch bei den Unimädels Lilli, Magda und Martini für die lustige Zeit während des Studiums bedanken.

Meiner lieben Freundin Dr. Daniela Bartholome danke ich für die mentale Unterstützung während der Promotionszeit. Du hattest immer ein offenes Ohr für mich.

Ein großer Dank gebührt meiner Familie ohne deren Unterstützung ich diesen Weg nicht hätte gehen können. Mein innigster Dank gilt meinem Freund Kai. Du hast mich stets unterstützt, motiviert und viel Geduld aufgebracht. Ohne Dich wäre vieles nicht möglich gewesen. DANKE!

# Inhaltsverzeichnis

<b>1 Einleitung .....</b>	<b>1</b>
<b>2 Zielsetzung .....</b>	<b>7</b>
<b>3 Grundlagen .....</b>	<b>8</b>
<b>3.1 Das Polypeptid PBLG als Stäbchenmodell .....</b>	<b>8</b>
3.1.1 Polymerisation von $\alpha$ -Amino-N-Carboxyanhydriden.....	10
3.1.1.1 amin-initiierte NCA Polymerisation .....	11
3.1.1.2 Nickel-initiierte NCA Polymerisation .....	16
<b>3.2 Selbstorganisation von polypeptidhaltigen Block- und Pfropfcopolymeren .....</b>	<b>19</b>
3.2.1 Aggregation von Stäbchen-Knäuel Blockcopolymeren.....	19
3.2.2 Aggregation von polypeptidhaltigen Pfropfcopolymeren in Lösung.....	25
<b>3.3 Synthese von polypeptidhaltigen makromolekularen Architekturen .....</b>	<b>29</b>
3.3.1 Herstellung von sternförmigen Polypeptiden.....	30
3.3.2 Herstellung von Polypeptidbürsten .....	35
3.3.2.1 zylindrische Polypeptidbürsten .....	35
3.3.3 Herstellung von polypeptidhaltigen Stäbchen-Knäuel Blockcopolymeren ....	39
3.3.3.1 NMP als kontrolliert radikalische Methode zur Herstellung des	
Knäuel-Blocks .....	42
3.3.3.2 Nitroxide und Alkoxyamine in der NMP .....	43
3.3.3.3 Synthese des Alkoxyamins .....	45
<b>3.4 Charakterisierungsmethoden.....</b>	<b>47</b>
3.4.1 Circular dichroismus (CD).....	47
3.4.2 Dynamische Lichtstreuung (DLS) .....	49
3.4.3 Rasterkraftmikroskopie .....	51
<b>4 Synthese von PBLG.....</b>	<b>54</b>
<b>4.1 Synthese des Nickel-Initiators für die NCA Polymerisation .....</b>	<b>55</b>
4.1.1 Ergebnisse der Nickel-initiierten NCA Polymerisation.....	60
4.1.2 Ergebnisse der amin-initiierten NCA Polymerisation.....	65
4.1.3 Zusammenfassung.....	72

<b>5</b>	<b>Synthese von sternförmigen Polypeptiden.....</b>	<b>75</b>
5.1	„coupling-onto“ Ansatz.....	75
5.1.1	Methoden zur Abtrennung von Homopolymer .....	83
5.1.2	Zusammenfassung .....	90
<b>6</b>	<b>Synthese von polypeptidhaltigen Stäbchen-Knäuel Blockcopolymeren... </b>	<b>92</b>
6.1	Synthese des bifunktionellen Initiators .....	92
6.1.1	Synthese des Alkoxyamins .....	94
6.1.2	Umsetzung zum Nickel-Initiator .....	95
6.2	kontrollierte Polymerisation von Styrol.....	98
6.2.1	kinetische Untersuchungen der NMP von Styrol mit der Vorstufe des bifunktionellen Initiators .....	98
6.2.2	kinetische Untersuchungen der PBLG-makroinitiierten NMP von Styrol ...	105
6.2.3	Charakterisierung der PBLG- <i>b</i> -PS Blockcopolymere .....	111
6.2.4	Zusammenfassung .....	122
6.3	kontrollierte Polymerisation von <i>tert</i> -Butylacrylat .....	124
6.3.1	PBLG-makroinitiierte NMP von <i>tert</i> -Butylacrylat .....	124
<b>7</b>	<b>Synthese und Charakterisierung von PBLG-Bürsten .....</b>	<b>129</b>
7.1	„grafting-onto“-Ansatz.....	130
7.1.1	Synthese von PVBAz als Polymerrückgrat.....	130
7.1.2	Voruntersuchungen zur Synthese von PBLG-Bürsten.....	133
7.1.3	kovalente Anbindung der PBLG-Seitenketten an PVBAz.....	137
7.1.4	Charakterisierung der PBLG-Bürsten .....	142
7.2	Hydrolyse der PBLG-Seitenketten .....	151
7.2.1	Aggregationsverhalten in wässriger Lösung .....	154
7.3	Zusammenfassung.....	160
<b>8</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick .....</b>	<b>162</b>
<b>9</b>	<b>Experimenteller Teil .....</b>	<b>166</b>
9.1	Materialien .....	166
9.1.1	Verwendete Lösungsmittel.....	166



---

9.1.2 Verwendete Chemikalien .....	167
<b>9.2 Verwendete Geräte.....</b>	<b>169</b>
<b>9.3 Synthesen.....</b>	<b>174</b>
9.3.1 Monomersynthese .....	174
9.3.2 Synthese der Amin-Initiatoren .....	174
9.3.2.1 <i>Synthese der Nitroxide</i> .....	175
9.3.2.2 <i>Synthese der Alkoxyamine</i> .....	177
9.3.3 Synthese des Nickel-Initiators.....	184
9.3.3.1 <i>Umsetzung zum bifunktionellen Initiator</i> .....	186
9.3.3.2 <i>Darstellung des Nickel-Komplexes als bifunktioneller Initiator</i> .....	192
9.3.4 Synthese von PBLG .....	195
9.3.4.1 <i>Nickel initiierte NCA Polymerisation</i> .....	195
9.3.4.2 <i>amin-initiierte NCA Polymerisation</i> .....	197
9.3.5 Darstellung der PBLG-Sterne .....	199
9.3.5.1 <i>Synthese der multifunktionellen Verknüpfungsreagenzien</i> .....	199
9.3.5.2 <i>Cu(I)-katalysierte “Click”-Reaktion</i> .....	204
9.3.5.3 <i>Reinigungsmethoden zur Abtrennung von Homopolymer</i> .....	206
9.3.6 Kinetikuntersuchungen der NMP .....	207
9.3.6.1 <i>NMP von Styrol</i> .....	207
9.3.6.2 <i>PBLG-makroinitiierte NMP von Styrol</i> .....	209
9.3.6.3 <i>PBLG-makroinitiierte NMP von tBA</i> .....	210
9.3.7 Darstellung der PBLG-Bürsten .....	211
9.3.7.1 <i>Synthese des Rückgrats</i> .....	211
9.3.7.2 <i>„grafting-onto“-Syntheseansatz</i> .....	213
9.3.7.3 <i>saure Hydrolyse von PBLG</i> .....	216
<b>10 Literatur .....</b>	<b>217</b>
<b>11 Anhang .....</b>	<b>225</b>

## Abkürzungs- und Symbolverzeichnis

abs.	absolut
AFM	Atomic Force Microscopy (Rasterkraftmikroskopie)
Alloc	Allyloxycarbonyl
Alox	Aluminiumoxid
AM	„Aktiviertes Monomer“-Mechanismus
ATRP	Atom Transfer Radical Polymerization
BIPNO	2,2,5-Trimethyl-4-(isopropyl)-3-azahexan-3-oxyl
BLG	$\gamma$ -Benzyl-L-glutamat
bpy	2,2'-Bipyridin
CD	Circulardichroismus
COD	1,5-Cyclooctadien
CuAAC	Kupfer(I)-katalysierte Azid-Alkin Cycloaddition
CRP	Controlled Radical Polymerization
$\delta$	Chemische Verschiebung (NMR)
d	Dublett (NMR)
DE	Diethylether
depe	Bis(diethylphosphinoethan)
DMAEMA	Dimethylaminoethylmethacrylat
DMF	N,N-Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
DLS	Dynamische Lichtstreuung
DSC	Differential Scanning Calorimetry
EA	Elementaranalyse
FT-IR	Fourier Transform Infrarot-Spektroskopie
GPC	Gelpermeationschromatographie
h	Stunde (engl. hour)
HDMS	Hexamethyldisilazan
HV	Hochvakuum
L	Ligand
LACCC	Liquid Adsorption Chromatography at Critical Conditions
LS	Lichtstreuung
Lys-NCA	L-Lysin-N-Carboxyanhydrid

---

m	Multiplett (NMR)
M	Monomer
MALDI-ToF	Matrix assisted laser desorption/ionization-time of flight
MALLS	Mehrwinkel-Laserlichtstreuung (Multi Angle Laser Light Scattering)
$M_n$	Molekulargewicht (Zahlenmittel)
$M_w$	Molekulargewicht (Gewichtsmittel)
MeOH	Methanol
MMA	Methylmethacrylat
NCA	N-Carboxyanhydrid
Ni(COD) <sub>2</sub>	Nickel-bis(cyclooctadien)
NMP	Nitroxid vermittelte Polymerisation (Nitroxid mediated Polymerization)
NMR	Kernresonanzspektroskopie
PAA	Poly(acrylsäure)
PB	Poly(butadien)
PBLG	Poly( $\gamma$ -benzyl-L-glutamat)
PD	Polydispersität (= $M_w/M_n$ )
PDMAEMA	Poly(dimethylaminoethylmethacrylat)
PE	Petrolether
PEG	Poly(ethylenglykol)
PEO	Poly(ethylenoxid)
phen	1,10-Phenanthrolin
PMDETA	Pentamethyldiethylentriamin
PMMA	Poly(methacrylsäuremethylester)
PNIPAM	Poly( <i>N</i> -isopropylacrylamid)
$P_n$	Polymerisationsgrad
PRE	Persistent Radical Effect
PS	Poly(styrol)
PtBA	Poly( <i>tert</i> -butylacrylat)
PVBaz	Poly(vinylbenzylazid)
PVBC	Poly(vinylbenzylchlorid)
PZLLys	Poly( $\epsilon$ -benzyloxycarbonyl-L-lysin)
q	Quartett (NMR)
RI	Refraktionsindex

ROP	ringöffnende Polymerisation
RT	Raumtemperatur
s	Singulett (NMR)
t	Triplett (NMR)
T	Temperatur
tBA	<i>tert</i> -Butylacrylat
TEM	Transmission Electron Microscopy
TEMPO	2, 2, 6, 6-Tetramethylpiperidinyloxid
THF	Tetrahydrofuran
TIPNO	2,2,5-Trimethyl-4-Phenyl-3-azahexan-3-aminoxyl
TMS	Trimethylsilan-Gruppe
wt%	Gewichtsprozent (engl. weight percent)
$\chi$	Flory-Huggins Parameter
$\lambda$	Wellenlänge
[ $\Theta$ ]	molare Elliptizität

# 1 Einleitung

Natürliche Polypeptide (Proteine) sind hochkomplexe Copolymere, die ihre außergewöhnlichen Eigenschaften aus einer genau definierten Aminosäuresequenz beziehen. Die strukturelle und funktionelle Vielfalt solcher biologischen Makromoleküle ist dabei besonders interessant, da sie verantwortlich für die biologische Aktivität von Proteinen ist.<sup>[1]</sup> Bestimmt durch die Primärstruktur des Polypeptids werden definierte, hierarchisch geordnete Strukturen durch die Fähigkeit zur Selbstorganisation ausgebildet. Polypeptide nehmen eine Vielzahl von stabilen, regelmäßigen Konformationen (z.B.  $\alpha$ -Helix und  $\beta$ -Faltblatt) ein, die als Sekundärstrukturen bezeichnet werden. Durch den nachfolgenden Prozess der Proteinfaltung entsteht eine hierarchische Ordnung, wodurch das Protein seine wohldefinierte dreidimensionale Struktur (Tertiär- und Quartärstruktur) erhält.<sup>[2]</sup> Dabei erfolgt die Strukturbildung ausschließlich über nicht-kovalente Wechselwirkungen wie z.B. Wasserstoffbrückenbindungen, Van-der-Waals-Kräfte und  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen. Seit einiger Zeit ist die Übertragung der Fähigkeit zur supramolekularen Selbstorganisation der natürlichen Proteine Gegenstand intensiver Forschung. Die Mechanismen der Natur zur Erzeugung der perfekt monodispersen Proteine bleiben immer noch unerreicht, trotzdem können die neuen Erkenntnisse bei der Kontrolle über Struktur und Eigenschaften künstlicher Proteine und peptidhaltiger Hybridmaterialien wesentlich zum Verständnis der natürlichen Mechanismen beitragen.

Als wichtiges Modellsystem für Proteine dienen die in dieser Arbeit behandelten synthetischen Homopolypeptide. Synthetische Homopolypeptide sind wie ihre natürlichen Analoga in der Lage, Sekundärstrukturen ( $\alpha$ -Helix und  $\beta$ -Faltblatt) auszubilden.<sup>[3]</sup> Viele der ersten Arbeiten über die Aufklärung der strukturellen Eigenschaften in fester Phase wurden von ELLIOTT und BAMFORD an solchen Homopolypeptiden durchgeführt.<sup>[4-6]</sup> Die Arbeitsgruppe BLOUT untersuchte ebenfalls die besonderen konformationellen Eigenschaften synthetischer Polypeptide, insbesondere in Lösung.<sup>[7-10]</sup> Synthetische Polypeptide zeigen einen Helix-Knäuel Übergang in Lösung, wie erstmals von DOTY beschrieben wurde.<sup>[8, 10]</sup> Durch nicht-kovalente Wechselwirkungen sowie die Fähigkeit zur Ausbildung der Sekundärstrukturen wird ein spezifisches Aggregationsverhalten hervorgerufen. Weitere Untersuchungen der besonderen Eigenschaften von Polypeptiden in Lösung ergaben, dass eine molekulare Assoziation in vielen Lösungsmitteln stattfinden kann.<sup>[11-14]</sup> Dabei ist der Grad der molekularen Assoziation von vielen Faktoren wie z.B. Lösungsmittel, Temperatur

und Molekulargewicht abhängig und wird in den Lösungsmitteln hervorgerufen, welche nur ein geringes Potenzial zur Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen zeigen.<sup>[15]</sup> Diese grundlegenden Erkenntnisse haben ganz wesentlich zum Verständnis der Proteine beigetragen.

Das bekannteste und am besten erforschte synthetische Homopolypeptid ist das Poly( $\gamma$ -benzyl-L-glutamat) (PBLG). PBLG kann sowohl im festen als auch im gelösten Zustand Sekundärstrukturen ( $\alpha$ -Helix und  $\beta$ -Faltblatt) ausbilden.<sup>[16]</sup> Aufgrund der stabilen  $\alpha$ -helicalen Struktur, die PBLG in Abhängigkeit vom Molekulargewicht annimmt, dient PBLG als Modellpolymer zur Untersuchung des Selbstorganisationsverhaltens im Nanometerbereich von starren, stäbchenförmigen Polymeren in Lösung.<sup>[17]</sup> Zudem besitzt PBLG Eigenschaften wie die Ausbildung von flüssig-kristallinen Phasen<sup>[11, 18]</sup> und zeigt in einigen Lösungsmitteln eine thermoreversible Gelierung.<sup>[19, 20]</sup> In Lösung ist PBLG in der Lage, einen Helix-Knäuel Übergang einzugehen und zeigt als Bestandteil in amphiphilen Blockcopolymeren ein interessantes Aggregationsverhalten bei der Bildung von Mizellen.<sup>[21-23]</sup> Im Hinblick auf die Strukturbildungseigenschaften besitzt PBLG als Block in Hybridpolymeren als Biomaterial ein großes Potenzial für biomedizinische Anwendungen, z.B. als Wirkstoffträger, in der Wirkstofffreisetzung und der Entwicklung von künstlichem Gewebe.<sup>[24-26]</sup>

Um die Fähigkeit der Selbstorganisation in definierte Nanostrukturen zu gewährleisten, ist es wichtig, Polypeptide mit hoher molekularer und struktureller Homogenität eindeutig definiert herzustellen. Voraussetzung dafür wohldefinierte PBLGs zu erhalten, ist die Anwendung von kontrollierten Polymerisationsmethoden. Die Herstellung von PBLG ist über die ringöffnende Polymerisation von  $\gamma$ -Benzyl-L-glutamat-*N*-Carboxyanhydrid ( $\gamma$ -BLG-NCA) möglich.<sup>[27, 28]</sup> Bei der NCA Polymerisation müssen jedoch zwei grundlegende Mechanismen unterschieden werden; der „aktivierte Monomer“ (AM)-Mechanismus und der Amin-Mechanismus, die beide auch nebeneinander vorliegen können. Der bevorzugt ablaufende Mechanismus ist dabei vom eingesetzten Initiator abhängig. Die Polymerisation nach dem AM-Mechanismus ist ein Stufenwachstumsprozess, der zu hochmolekularen Polypeptiden mit unkontrollierbaren Molekulargewichten führt. Die Polymerisation nach dem Amin-Mechanismus stellt einen nucleophilen, ringöffnenden Kettenwachstumsprozess dar und kann bei Abwesenheit von Nebenreaktionen zu einem linearen Wachstum des Polymers mit dem Monomerverbrauch

führen. Polymerisationen nach dem Amin-Mechanismus erlauben daher den Zugang zur Herstellung von komplexen polypeptidhaltigen Materialien. Zahlreiche Arbeitsgruppen haben sich bereits intensiv mit der kontrollierten amin-initiierten NCA Polymerisation beschäftigt und Methoden entwickelt, um die Nebenreaktionen zu umgehen.<sup>[28]</sup> Nebenreaktionen können beispielsweise durch Änderungen der Polymerisationsbedingungen unterdrückt werden.<sup>[29-32]</sup> Eine weitere Methode zur Realisierung einer kontrollierten NCA Polymerisation wurde von SCHLAAD und Mitarbeiter entwickelt, bei der die Nebenreaktionen durch eine *in-situ* Reprotonierung des NCA-Anions während der Polymerisation unterdrückt werden.<sup>[33]</sup> Anstelle eines primärenamins wird hierbei ein Amin-Hydrochlorid eingesetzt. Des Weiteren gibt es auch die Möglichkeit Polypeptide unter Verwendung von Hexamethyldisilazan (HDMS) als Initiatoren für die kontrollierte NCA Polymerisation herzustellen.<sup>[34]</sup> Allerdings können mit dieser Methode nur speziell entwickelte *N*-trimethylsilyl-Amin-Derivate als Initiatoren eingesetzt werden. Eine neue Methode in der kontrollierten NCA Polymerisation wurde von DEMING entwickelt, bei der Übergangsmetallkomplexe als Initiatoren eingesetzt werden.<sup>[35-40]</sup> Mit dieser Methode können Polypeptide mit kurzen Ketten, aber auch hochmolekulare Polypeptide mit einem Molekulargewicht bis zu 500000 g/mol kontrolliert hergestellt werden.<sup>[41]</sup> Diese neuen Aspekte in der kontrollierten NCA Polymerisation erlauben durch den Einsatz von funktionalisierten Initiatoren den Zugang zu peptidhaltigen Materialien mit verschiedenen, eindeutig definierten Architekturen. Dabei stellt ein hoher Funktionalisierungsgrad die Grundvoraussetzung für die Herstellung von makromolekularen Strukturen dar, da sowohl die Polydispersität als auch Verunreinigungen mit Homopolymer einen großen Einfluss auf die Selbstorganisation haben.

Um das Aggregationsverhalten der hochkomplexen Proteine noch besser zu verstehen, und auch um die besonderen Eigenschaften für neue Materialien und Anwendungen nutzbar machen zu können, ist ein höheres Maß an Komplexität der Modellsysteme nötig.<sup>[42]</sup> In der Synthese von Polypeptiden mit Strukturen von spezieller Architektur besteht deshalb weiterhin Forschungsbedarf. Die große Herausforderung für den Synthesechemiker ist dabei die Darstellung von polypeptidhaltigen Materialien mit definierten Strukturen. An diesem Punkt knüpft die vorliegende Arbeit an. Es wurden verschiedene polypeptid-basierte Polymere wie Sternpolymere, Stäbchen-Knäuel Blockcopolymere und Polypeptidbürsten synthetisiert, die sich im Hinblick auf ihre Architektur unterscheiden. Die Synthese solcher Strukturen, insbesondere die der sternförmigen Polypeptide, aber auch die der

Polypeptidbürsten ist bisher wenig beschrieben. Einige der für die Synthese dieser Strukturen bereits in der Literatur dargestellten grundlegenden Methoden werden im Folgenden zusammengestellt.

Die Sekundärstruktur von Polypeptiden spielt eine große Rolle bei der Bildung von genau definierten tertiären Strukturen von Proteinen. Mit sternförmigen Polypeptiden lassen sich durch ihre dreidimensionale und globuläre Form besser die Tertiärstrukturen von Proteinen nachahmen. Diese Voraussetzung ist wichtig, um solche Polypeptide als künstliche Proteine oder Container-Moleküle agieren zu lassen.<sup>[43]</sup> Eine Klasse der sternförmigen Polypeptide sind die polypeptidhaltigen Dendrimere, die vor allem als „*Multiple Antigen Peptides*“ (MAP) zur Bekämpfung von Krebszellen oder Krankheitserregern Anwendung finden können.<sup>[44, 45]</sup> Für die Synthese von wohldefinierten sternförmigen Polypeptiden wird vorzugsweise der „*core-first*“-Ansatz mit multifunktionellen Initiatoren<sup>[44, 46, 47]</sup> oder der „*coupling-onto*“-Ansatz mit multifunktionellen Verknüpfungsreagenzien<sup>[48, 49]</sup> angewandt. Der „*core-first*“-Ansatz für die Synthese von Sternpolymeren mit Polypeptidarmen ist in der Literatur am weitesten verbreitet. Dennoch können bei der Synthese von Sternen mit hochmolekularen Polypeptidarmen Nebenreaktionen wie z.B. Kettenabbruchreaktionen auftreten, die zu Sternpolymeren mit breiten Molekulargewichtsverteilungen führt. Eine genaue Charakterisierung des Produktes ist deshalb nur schwer möglich. Mit dem „*coupling-onto*“-Ansatz werden diese Nebenreaktionen umgangen. Die Funktionalität des Sternprodukts kann mit hoher Genauigkeit analysiert werden. Allerdings wird für eine hohe Kupplungseffizienz ein Überschuss an Homopolymer benötigt, der nach der Synthese wieder abgetrennt werden muss.

Die zweite Strukturklasse für diese Arbeit umfasst die Darstellung von Stäbchen-Knäuel Blockcopolymeren. Speziell die polypeptidhaltigen Blockcopolymere mit einem Vinylpolymer (z.B. Polystyrol) als Knäuel zeigen ein einzigartiges Lösungs- und Festphasenverhalten, wodurch verschiedenste Morphologien im Submikrometer-Bereich gebildet werden.<sup>[50]</sup> Durch eine entsprechende Zusammensetzung dieser Hybridpolymere können die bemerkenswerten Eigenschaften des Polypeptids (z.B. Ausbildung von Sekundärstrukturen, Funktionalität, Biokompatibilität) mit denen des Vinylpolymers (z.B. Löslichkeit, Verarbeitbarkeit, Gummielastizität) kombiniert werden.<sup>[51]</sup> Der PBLG-Block wird dabei häufig als Vorstufe für die Poly(L-glutaminsäure) (PLGA) eingesetzt. So können amphiphile Eigenschaften durch die Kombination eines hydrophilen Blocks wie der



Poly(L-glutaminsäure) und eines hydrophoben Blocks (z.B. Polystyrol, Polybutadien) erreicht werden.<sup>[52-55]</sup> Aufgrund der Fähigkeit von amphiphilen Blockcopolymeren durch Selbstorganisation verschiedene Nanostrukturen auszubilden, wächst zunehmend das Interesse in der Materialwissenschaft (z.B. für Nanolithographie, Nanostrukturierung)<sup>[56]</sup> und in der Biomedizin (als „Drug-Delivery“ System).<sup>[57]</sup> So wurden zum Beispiel von DEMING et al. polypeptidhaltige amphiphile Blockcopolymere entwickelt, die als Vesikel und Hydrogele für die Verkapselung und kontrollierte Freisetzung von Wirkstoffen Anwendung finden können.<sup>[57-59]</sup> In der Literatur wird die Herstellung von polypeptidhaltigen Stäbchen-Knäuel Blockcopolymeren über verschiedene Synthesewege beschrieben. Häufig wird ein amin-endfunktionalisiertes Vinylpolymer als Makroinitiator für die ringöffnende Polymerisation (ROP) von NCA eingesetzt.<sup>[33, 60-62]</sup> Allerdings kann eine unvollständige Endfunktionalisierung am Knäuel-Block zu Verunreinigungen mit unfunktionalisiertem Homopolymer im Blockcopolymer führen. Eine andere Strategie, die für die Synthese von Stäbchen-Knäuel Blockcopolymeren zur Verfügung steht, ist die Kupplungsreaktion von zwei Polymeren mit entsprechender Endfunktion über die „Click-Chemie“.<sup>[63, 64]</sup> Der Nachteil hierbei ist der zusätzlich benötigte Reinigungsschritt zum Abtrennen von nicht reagiertem Homopolymer, welcher meist als Überschuss eingesetzt werden muss. Ein eleganter Weg, die benötigten Modifikationen und zusätzlichen Reinigungsschritte zu umgehen, ist der Einsatz eines bifunktionellen Initiators. Diese Strategie konnte exemplarisch bereits erfolgreich für die Synthese von Stäbchen-Knäuel Blockcopolymer eingesetzt werden.<sup>[65-67]</sup>

Eine weitere spezielle Architektur stellen die polypeptidhaltigen Pfropfcopolymere dar, die auch als Polypeptidbürsten bezeichnet werden. Im Vergleich zu den linearen Blockcopolymeren zeigen die Pfropfcopolymere durch Änderung der Pfropfdichte und der Seitenkettenlänge mehr Freiheiten im Selbstorganisationsverhalten und weisen daher ein komplexeres Aggregationsverhalten auf.<sup>[21]</sup> Eine besondere Klasse der Pfropfcopolymere sind die zylindrischen Polypeptidbürsten (auch molekulare Flaschenbürsten genannt), die sich durch ihre wurmförmige Konformation auszeichnen und als eindimensionale Template für die Herstellung von Nanostrukturen wie Nanoröhrchen oder Nanofäden Anwendung finden.<sup>[68]</sup> Einen großen Einfluss auf das Selbstorganisationsverhalten von Polypeptidbürsten haben die Wahl des Lösungsmittels, die Seitenkettenlänge und die Pfropfdichte. Beispielsweise organisieren sich PBLG-haltige Pfropfcopolymere mit Poly(ethylenglycol) (PEG) als Seitenkette mit ansteigender Pfropfdichte in Lösung von Vesikel zu spindelförmigen Mizellen

bis hin zu sphärischen Mizellen.<sup>[69]</sup> Zylindrische Bürsten mit Polypeptiden als Seitenketten nehmen hingegen eine viel kompaktere Konformation ein, die durch die Wechselwirkung der hydrophilen Seitenketten untereinander verursacht wird. Beeinflusst durch die Ionenkonzentration (Zugabe von Salz) können die zylindrischen Polypeptidbürsten mit einer hohen Pfropfdichte eine helicale Struktur einnehmen, wodurch der Helix-Knäuel Übergang kaum beeinträchtigt wird.<sup>[70]</sup> PBLG-haltige Pfropfcopolymere werden hauptsächlich über zwei unterschiedliche Strategien synthetisiert: Dem „*grafting-from*“-Ansatz<sup>[71-74]</sup> und dem „*grafting-onto*“-Ansatz<sup>[75, 76]</sup>. Mit der „*grafting-from*“-Methode können Polymerbürsten mit langen Polymerrückgraten und hohen Pfropfdichten hergestellt werden. Jedoch ist der Grad der Kontrolle über die Seitenkettenlänge und die Pfropfdichte eher gering. Auch gestaltet sich eine vollständige Charakterisierung der Polymerbürste als große Herausforderung. Ein weiterer vielversprechender Ansatz ist die „*grafting-onto*“-Methode, bei der mithilfe von Kupplungsreaktionen die Pfropfcopolymere synthetisiert werden. Aufgrund der sterischen Effekte werden häufig geringe Pfropfdichten beobachtet. Der große Vorteil dieser Methode liegt aber in der einfachen Charakterisierung der Polymerbürste, da sowohl Rückgrat als auch Seitenkette unabhängig voneinander über kontrollierte Polymerisationstechniken hergestellt und charakterisiert werden können.

## 2 Zielsetzung

Als wichtige Modellsysteme, die zum Verständnis des Aggregationsverhaltens von Proteinen beitragen können, dienen polypeptidhaltige Strukturen mit einer hohen Komplexität. In dieser Arbeit werden drei verschiedene polypeptidhaltige Strukturen hergestellt: Sternpolymere, Stäbchen-Knäuel Blockcopolymere und Polymerbürsten. Im Vordergrund steht dabei die Synthese und Charakterisierung dieser drei unterschiedlichen Strukturen, die auf dem synthetischen Polypeptid Poly( $\gamma$ -benzyl-L-glutamat) (PBLG) basieren. Die Synthese von PBLG soll einerseits über die kontrollierte Nickel-katalysierte NCA Polymerisation aber auch mit der amin-initiierten NCA Polymerisation realisiert werden. Durch den Einsatz von funktionalisierten Initiatoren soll eine entsprechende Endfunktion in das PBLG eingeführt werden, um den Zugang zu solchen Strukturen zu ermöglichen. Zur Realisierung der drei Strukturen sollen Synthesestrategien eingesetzt werden, die mögliche Nebenreaktionen minimieren.

Für die Synthese von Stäbchen-Knäuel Blockcopolymeren wird der Ansatz eines bifunktionellen Initiators verwendet. Mit diesem soll einerseits die kontrollierte NCA Polymerisation zur Herstellung des PBLG-Blocks (Stäbchen-Block) und andererseits die kontrolliert radikalische Polymerisation von Vinylmonomeren zur Herstellung des Knäuel-Blocks miteinander kombiniert werden. Die Herstellung von Blockcopolymer soll mit der PBLG-makroinitiierten NMP realisiert werden. Dazu wird der Einfluss möglicher Nebenreaktionen untersucht und insbesondere auf den kontrollierten Charakter der NMP mit und ohne PBLG-Makroinitiator eingegangen. Ein wichtiger Aspekt dabei ist der Nachweis der Bildung von Blockcopolymeren.

Als Synthesestrategie für die Darstellung von PBLG-haltigen Sternpolymeren und Pfropfcopolymeren soll der „*coupling-onto*“-Ansatz bzw. der „*grafting-onto*“-Ansatz Einsatz finden. In beiden Methoden wird die Kupfer(I)-katalysierte Azid-Alkin Cycloaddition (CuAAC), auch als „*Click-Chemie*“ bekannt, als Kupplungsreaktion verwendet. Im Hinblick auf die Kupplungseffektivität soll der Einfluss der Länge des PBLG-Arms untersucht werden. In Pfropfcopolymeren wird als zusätzlicher Einflussparameter auf die Pfropfdichte noch die Länge des Rückgrats untersucht. Das spezifische Aggregationsverhalten von Polypeptiden in Lösung soll anhand von PBLG-haltigen Pfropfcopolymeren untersucht werden.

### 3 Grundlagen

#### 3.1 Das Polypeptid PBLG als Stäbchenmodell

Polypeptide sind Polymere aus  $\alpha$ -Aminosäuren, die sowohl natürlichen als auch synthetischen Ursprungs sein können. Natürliche hochkomplexe Polypeptide wie z.B. die Proteine sind aus diversen, definierten, sekundären Strukturen und Domänen von Faltungen aufgebaut und lassen sich als perfekt monodisperse Polypeptide mit einer definierten Aminosäuresequenz beschreiben.<sup>[42]</sup> Die Abfolge der einzelnen Aminosäuren einer Polypeptidkette wird als Primärstruktur bezeichnet.<sup>[77]</sup> Abhängig von den Substituenten der Aminosäuren nehmen Polypeptide eine Vielzahl von konformationellen stabilen Sekundärstrukturen (Helices, Faltblätter, Schleifen), tertiären Strukturen (z.B.  $\beta$ -Strang- $\alpha$ -Helix- $\beta$ -Strang Einheit gefunden in  $\beta$ -Barrels) und quartären Strukturen (z.B. Kollagen Mikrofasern) ein.<sup>[1]</sup> Die im Protein gefundenen Strukturelemente sind schematisch in Abbildung 3.1 dargestellt.

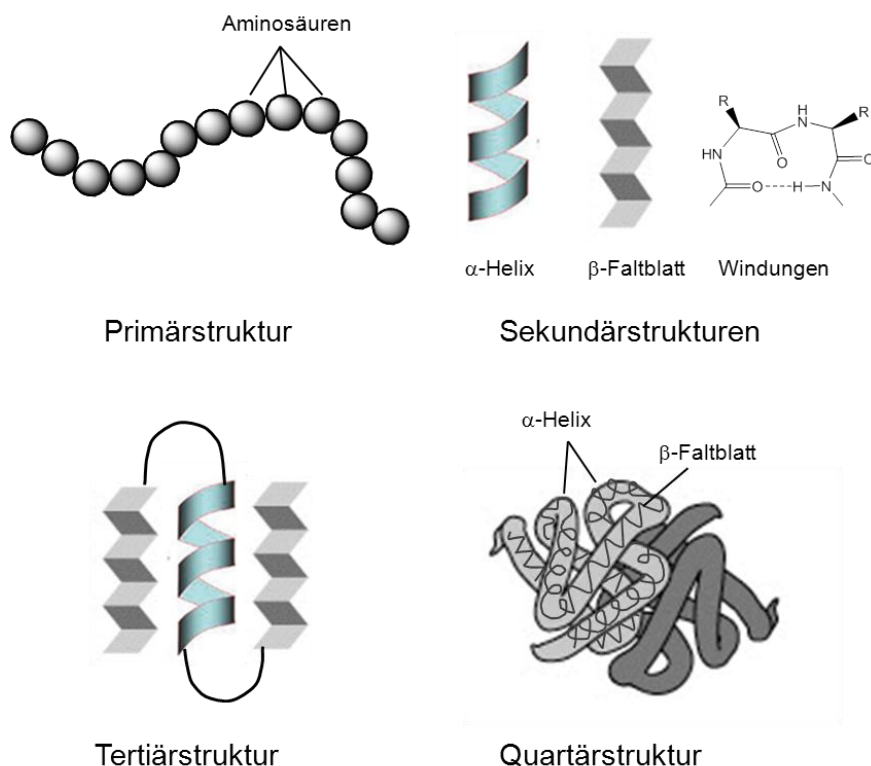


Abbildung 3.1: In Proteinpolymeren gefundene Strukturelemente.<sup>[1, 78]</sup>

Synthetische Polypeptide, die vergleichbare Eigenschaften mit ihrem Pendant biologischen Ursprungs haben, sind im einfachsten Fall aus einer Aminosäure aufgebaut und werden entsprechend Homopolypeptide bezeichnet. Durch ihre Fähigkeit stabile Konformationen ( $\alpha$ -Helices und  $\beta$ -Faltblätter) auszubilden, können sie sich in definierte Strukturen selbstorganisieren. Die  $\alpha$ -Helices sind durch intramolekulare Wasserstoffbrückenbindungen stabilisiert, die sich jeweils zwischen dem Sauerstoff-Atom der Carbonyl-Gruppe und dem Amid-Proton einer Aminosäure, die in der linearen Sequenz vier Positionen weiter liegt, ausbilden. Die  $\beta$ -Faltblattstruktur wird hingegen durch intermolekulare Wasserstoffbrückenbindungen stabilisiert. Beide Strukturen können sowohl im festen als auch im gelösten Zustand vorliegen.<sup>[16]</sup>

Das bekannteste synthetische Polypeptid ist das Poly( $\gamma$ -benzyl-L-glutamat) PBLG, welches durch die Ausbildung einer  $\alpha$ -Helix eine starre stäbchenförmige Struktur und eine mesoskopisch flüssigkristalline Ordnung aufweist.<sup>[11, 18]</sup> Wegen der guten Löslichkeit wird es häufig als Modellsystem für stäbchenförmige Polymersysteme eingesetzt.<sup>[17]</sup> PBLG wurde intensiv in Bezug auf den Helix-Knäuel Übergang und der flüssigkristallinen Eigenschaften studiert. Das Polypeptid organisiert sich bei kleinen Molekulargewichten zu einer Mischung aus lamellarer Anordnung von  $\beta$ -Faltblättern, röhrenförmiger hexagonaler Anordnung von  $\alpha$ -helicalen Peptiden und ungeordneten Helices. Erst oberhalb eines Polymerisationsgrades von 18 wird ausschließlich die  $\alpha$ -Helix ausgebildet.<sup>[79]</sup> Die  $\alpha$ -Helix des PBLG ist eine rechtsdrehende  $\alpha$ -Helix, welche ein typisches Merkmal für Polypeptide aus L- $\alpha$ -Aminosäuren ist und einen Abstand von 0,54 nm pro Windung aufweist. Eine Windung besteht aus 3,6 Monomereinheiten, das entspricht 18 Einheiten in 5 Windungen, so dass die Helix als 18/5 Helix bezeichnet wird. Die Existenz der helicalen Struktur ergibt ein großes Dipolmoment, welches parallel zu der helicalen Achse verläuft. Studien in Lösung haben ergeben, dass das Dipolmoment pro Peptideinheit 3,46 D beträgt.<sup>[80]</sup> In helicogenen Lösungsmitteln wie z.B. DMF,  $\text{CHCl}_3$  oder  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  liegt das PBLG vollständig  $\alpha$ -helical vor, neigt aber dazu zu assoziieren.<sup>[81]</sup> Die Assoziation kann durch Zugabe einer geringen Konzentration von Trifluoressigsäure (TFA) ( $\leq 10$  vol%) zum helicogenen Lösungsmittel verhindert werden, ohne dass die helicale Struktur zerstört wird. Bei höheren TFA-Konzentrationen werden die intramolekularen Wasserstoffbrückenbindungen aufgebrochen, so dass das PBLG eine Knäuel-Konformation einnimmt und sich dadurch wie ein flexibles Polymer verhält.<sup>[82]</sup>

Durch Abspaltung der Schutzgruppe wird das PBLG in die hydrophile Form der Poly(L-glutaminsäure) (PLGA) überführt. Die Schutzgruppe des PBLG kann leicht unter milden Bedingungen abgespalten werden. Abbildung 3.2 zeigt ausgehend von PBLG die Darstellung von PLGA z.B. durch Hydrierung<sup>[83]</sup> (Variante A) oder unter sauren Bedingungen<sup>[84]</sup> (Variante B). Bei der Poly(L-glutaminsäure) kann die Ausbildung einer  $\alpha$ -helicalen Sekundärstruktur leicht durch Änderung des pH-Wertes beeinflusst werden. PLGA wird dabei als starker  $\alpha$ -Helix-Bildner klassifiziert<sup>[85]</sup>, so dass in Abhängigkeit des pH-Wertes ein Knäuel-Helix Übergang zu erwarten ist.

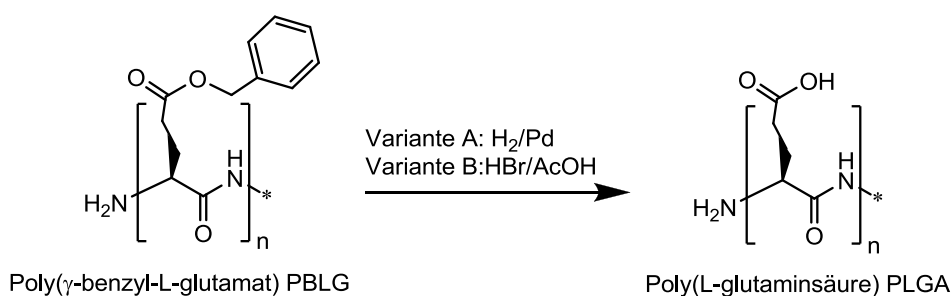


Abbildung 3.2: Abspaltung der Schutzgruppe des PBLG z.B. durch katalytische Hydrierung (Variante A) oder unter sauren Bedingungen (Variante B) zu PLGA.

### 3.1.1 Polymerisation von $\alpha$ -Amino-N-Carboxyanhydriden

Die Synthese und Polymerisation der ersten  $\alpha$ -Aminosäure-N-Carboxyanhydride (NCAs) wurde im Jahre 1906 von LEUCHS beschrieben und lange Zeit nach ihrem Erfinder auch Leuchs'sche Anhydride genannt.<sup>[86]</sup> Die ringöffnende Polymerisation (ROP) von NCA entwickelte sich als die meist angewandte Technik für die Herstellung von hochmolekularen Polypeptiden. Diese Strategie beinhaltet die einfachsten Reagenzien und es können Polypeptide in hohen Ausbeuten ohne Racemisierung am Chiralitätszentrum ( $\alpha$ -Kohlenstoffatom) während der Polymerisation hergestellt werden (s. Abb. 3.3).<sup>[27]</sup>

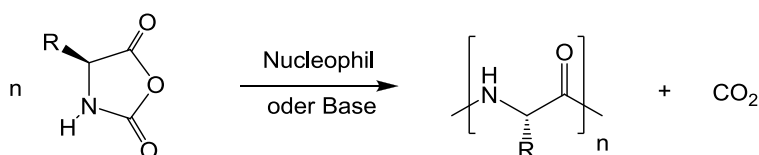


Abbildung 3.3: Ringöffnende Polymerisation von NCA.<sup>[27, 28]</sup>

Mit dieser Methode sind primär nur Homopolypeptide, statistische Copolymere oder Pfropfpolymere zugänglich. Diese Polymere weisen zwar nicht die spezifische Aminosäuresequenz und Monodispersität natürlicher Proteine auf, dennoch besteht ein großes Interesse für die Entwicklung von Modellsystemen, um den Zusammenhang zwischen Primär- und Sekundärstruktur aufzuklären. Es ist daher wichtig synthetische Polypeptide mit hoher molekularer und struktureller Homogenität eindeutig definiert herzustellen, um so ihre Fähigkeit der Selbstorganisation in definierte Nanostrukturen zu gewährleisten. Im Folgenden werden die wichtigsten Reaktionsmechanismen vorgestellt; eine detaillierte Darstellung bezüglich der ROP von NCA ist bereits in mehreren Literaturübersichten veröffentlicht worden.<sup>[28, 41, 87]</sup>

### 3.1.1.1 amin-initiierte NCA Polymerisation

Bei der konventionellen Methode wird der Mechanismus durch Nucleophile wie primäre Amine oder durch Basen wie z.B. tertiäre Amine als Initiatoren gestartet. Für die NCA Polymerisation lassen sich zwei grundlegende Mechanismen unterscheiden. Zum einen der Amin-Mechanismus<sup>[88]</sup> und zum anderen der „aktivierte Monomer“ (AM)-Mechanismus<sup>[89]</sup>, die aber beide auch nebeneinander vorliegen können. Das System kann während der NCA Polymerisation zwischen den beiden Mechanismen hin- und herschalten: Ein Wachstumsschritt des einen Mechanismus ist eine Nebenreaktion des anderen und umgekehrt. Welcher der beiden Mechanismen bevorzugt wird, hängt vom eingesetzten Initiator ab. Bei Verwendung eines Nucleophils als Initiator läuft die NCA Polymerisation bevorzugt nach dem Amin-Mechanismus ab, mit Basen als Initiatoren hingegen nach dem AM-Mechanismus.

Für die gezielte Polymerisation nach dem AM-Mechanismus werden häufig tertiäre Amine wie z.B. Triethylamin als Initiatoren eingesetzt, da sie mehr basisch als nucleophil reagieren. Im ersten Schritt wird der AM-Mechanismus durch die Deprotonierung eines NCA Monomers eingeleitet. Das entstehende NCA-Anion fungiert nun selbst als Nucleophil und greift ein weiteres NCA-Molekül an. Es entsteht ein *N*-aminoacyl-NCA, das stärker empfänglich für einen nucleophilen Angriff ist als das NCA selbst. In den folgenden Wachstumsschritten reagieren die NCA-Anionen bevorzugt mit den vorhandenen *N*-aminoacyl-NCAs. Das Kettenwachstum kann aber auch am nucleophilen Kettenende der Carbamatgruppe stattfinden. Der Initiator wird dabei nicht in die wachsende Polymerkette eingebaut, sondern fungiert vielmehr als Katalysator. Eine Kontrolle des Molekulargewichtes

oder der Molekulargewichtsverteilung ist daher nicht möglich. Im Allgemeinen werden mit dieser Methode bei einem nahezu vollständigen Umsatz hochmolekulare und polydisperse Polypeptide erhalten. Das Schema zur Veranschaulichung des AM-Mechanismus ist in Abbildung 3.4 gezeigt.

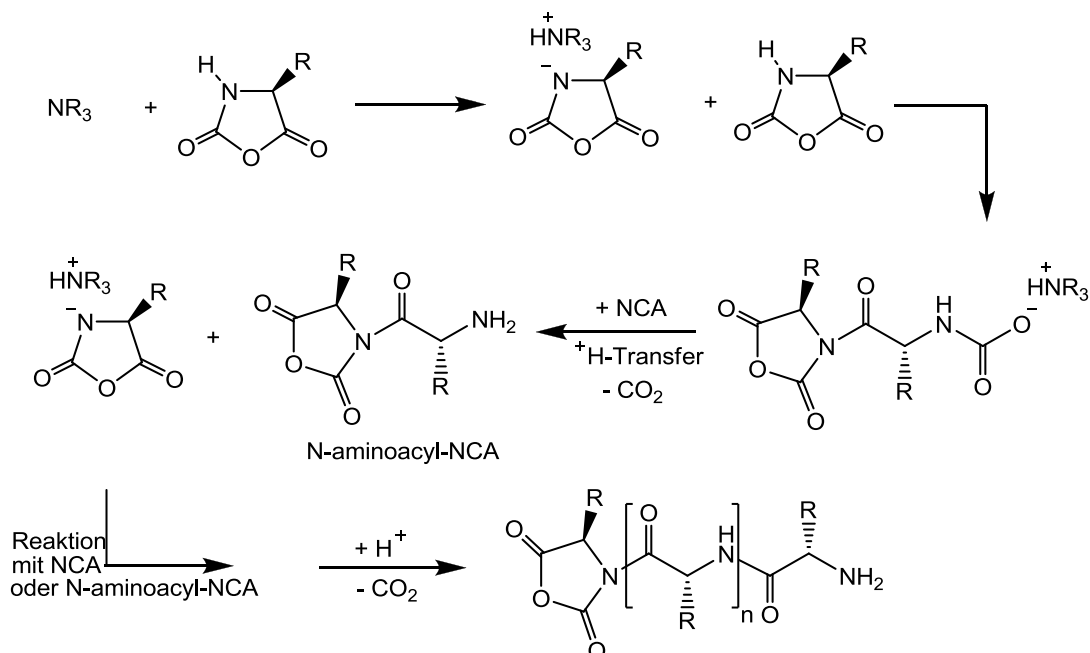


Abbildung 3.4: „aktivierter Monomer“(AM)-Mechanismus der NCA Polymerisation mit tertiären Aminen.<sup>[27, 28]</sup>

Die mit Abstand am häufigsten angewandte Methode zur Synthese von Polypeptiden ist die durch primäre Amingruppen initiierte ROP von NCA. Sie gewährleistet eine einfache Kontrolle des Polymerisationsgrades  $P_n$  durch Variation des Monomer/Initiator-Verhältnisses. Der Amin-Mechanismus verläuft nach einem nucleophil ringöffnenden Kettenwachstumsprozess, wie in Abbildung 3.5 dargestellt. Es erfolgt zunächst der nucleophile Angriff auf das NCA-Molekül am Carbonyl-C-Atom, so dass unter Ringöffnung eine Carbamat-Verbindung entsteht. Durch direkte Decarboxylierung wird eine aktive Spezies gebildet, die wiederum eine primäre Aminofunktion als Kettenende besitzt und als Nucleophil fungiert. Bei Abwesenheit von Nebenreaktionen kann das Wachstum des Polymers linear mit dem Monomerumsatz verlaufen. Jedoch muss hierbei beachtet werden, dass Amine auch einen basischen Charakter besitzen und daher durch Deprotonierung eines NCA-Monomers den AM-Mechanismus initiieren können.



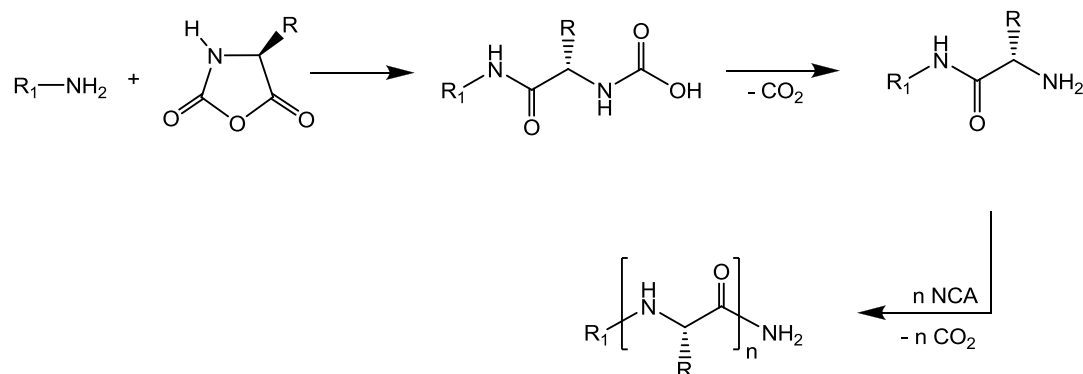


Abbildung 3.5: Amin-Mechanismus der NCA Polymerisation mit primären Aminen.<sup>[27, 28]</sup>

Die Konkurrenz der beiden grundlegenden Mechanismen stellt ein großes Problem in der konventionellen NCA Polymerisation dar. Des Weiteren spielt die Reinheit der NCAs eine große Rolle. Obwohl die meisten NCAs kristalline Verbindungen sind, enthalten sie doch kleinste Spuren von Säuren, Säurechloriden und Isocyanaten, die eine wachsende Kette abbrechen können. Außerdem können Verunreinigungen wie z.B. Wasser als Kettenüberträger wirken.<sup>[40, 90]</sup> Ein weiterer Nachteil ist die geringe Lagerbeständigkeit der NCAs. Auf der Oberfläche der NCA-Kristalle befinden sich Spuren von Wasser, die durch Wasserstoffbrückenbindungen fixiert sind und eine langsame Polymerisation auch in der festen Phase initiieren. Das Problem kann vermieden werden, indem z.B. das N-Atom am NCA mit einer leicht entfernbaren Schutzgruppe versehen wird, wodurch jedoch der Synthesaufwand erhöht wird.<sup>[91]</sup>

Die Vielzahl der beschriebenen Nebenreaktionen macht es schwierig eine kontrollierte Polymerisation zu erreichen. Allerdings wurden in den letzten Jahren neue Methoden entwickelt, die große Erfolge in der kontrolliert amin-initiierten NCA Polymerisation zeigten. In den Arbeiten von SCHLAAD et al. wurde über den Einsatz primärer Hydrochloridamine als Initiatoren berichtet, die den AM-Mechanismus umgehen.<sup>[92]</sup> Die Bildung der NCA-Anionen werden durch das Gleichgewicht der Salzsäure mit dem Hydrochlorid sofort wieder protoniert, so kann der AM-Mechanismus gar nicht erst gestartet werden. Zudem wird die Konzentration des aktiven Amins durch das Gleichgewicht reduziert. Es konnten Polypeptide mit sehr engen Molekulargewichtsverteilungen (PD ~ 1,03) und definierten Endgruppen hergestellt werden. Der postulierte Mechanismus ist in Abbildung 3.6 dargestellt.

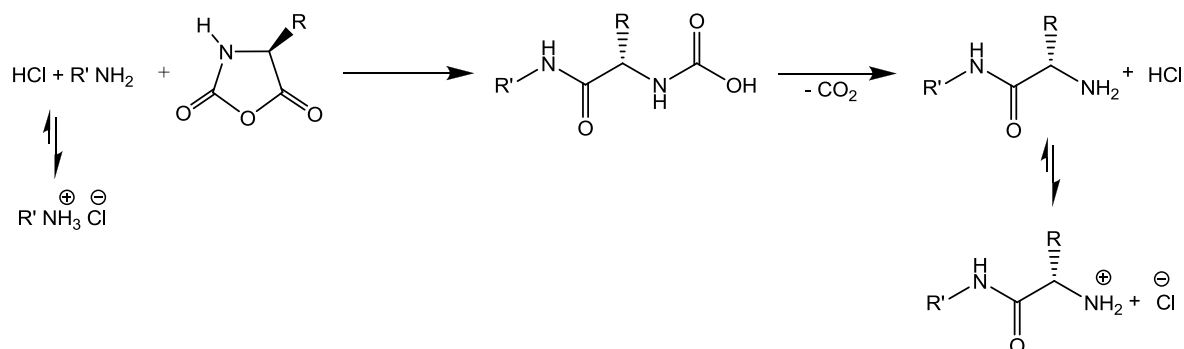


Abbildung 3.6: Synthese von Polypeptiden nach dem Amin-Mechanismus von SCHLAAD.<sup>[92]</sup>

Eine andere Strategie zur Verbesserung der amin-initiierten NCA Polymerisation wurde von der Arbeitsgruppe von HADJICHRISTIDIS et al.<sup>[29]</sup> entwickelt. Die Autoren verwendeten eine Hochvakuum-Technik (HVT), um die Verunreinigungen im NCA-System zu minimieren. Es konnte gezeigt werden, dass die Polymerisation von  $\gamma$ -Benzyl-L-glutamat NCA ( $\gamma$ -BLG-NCA) und  $\epsilon$ -Carbobenzyloxy-L-Lysine NCA unter Hochvakuum in DMF als Lösungsmittel alle Charakteristiken einer „lebenden“ Polymerisation erfüllt. Polypeptide mit einstellbaren Molekulargewichten und engen Molekulargewichtsverteilungen konnten hergestellt werden. Auch die Arbeiten von VAYABOURY et al.<sup>[30]</sup> trugen wesentlich zur Verbesserung der amin-initiierten NCA Polymerisation bei. Diese Gruppe untersuchte die Polymerisation von  $\epsilon$ -Trifluoracetyl-L-Lysin NCA (TFA-Lys NCA) mit *n*-Hexylamin als Initiator in Abhängigkeit zur Temperatur. Sie konnten zeigen, dass durch Erniedrigung der Reaktionstemperatur auf 0 °C die Nebenreaktionen eliminiert werden konnten. Bei der Untersuchung des Verhältnisses von lebenden (Amin-Endgruppen) zu toten Kettenenden (Carboxylat und Formyl-Endgruppen) konnte bei der Erniedrigung der Temperatur von 20 °C auf 0 °C ein Anstieg der lebenden Kettenenden von 22 % auf 99 % beobachtet werden. Anschließende Zugabe von NCA Monomer bei 0 °C resultierte in einer Erhöhung des Molekulargewichts, somit konnte der lebende Charakter der Polymerisation bestätigt werden.

Eine ähnlicher Syntheseweg zu der amin-initiierten NCA Polymerisation nach dem Amin-Mechanismus für die Darstellung von Polypeptiden ist der Einsatz von Thiolen als Initiator (s. Abbildung 3.7), beschrieben durch die Gruppe ZHANG et al.<sup>[93]</sup> Da Thiole eher nucleophil als basisch wirken, verläuft der Mechanismus der ROP von NCA durch einen nucleophilen Angriff am NCA Ring nach dem sogenannten Amin-Mechanismus. Die Ergebnisse zeigen, dass die Polymerisation nicht wie erwartet „lebend“ verläuft, da breite Molekulargewichts-

verteilungen ( $PD > 1,8$ ) erhalten werden. Eine Kontrolle in der Polymerisation konnte auch durch Erniedrigung der Temperatur auf  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  nicht erreicht werden.

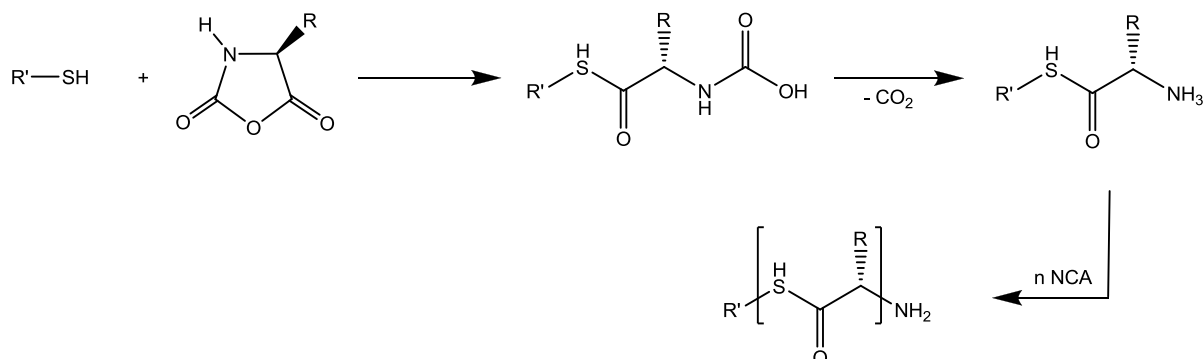


Abbildung 3.7: Synthese von Polypeptiden nach dem „Amin-Mechanismus“ initiiert durch Thiol nach ZHANG<sup>[93]</sup>

Eine alternative Methode für eine ROP von NCA wurde von LU et al. mit Hexamethyldisilazan (HDMS) als Initiator entwickelt.<sup>[34]</sup> Mit dieser Strategie konnten Polypeptide mit niedrigen Polydispersitäten von 1,19 bis 1,26 und eingestellten Molekulargewichten hergestellt werden. Zudem ist es möglich schon nach 24 Stunden bei Raumtemperatur einen vollständigen Umsatz des Monomers zu erreichen. Wie sekundäre Amine, agiert das HDMS sowohl nucleophil als auch basisch. Zunächst wird das NCA deprotoniert und dabei eine Trimethylsilanfunktion (TMS) auf die C-2 Position übertragen. Das verbleibende TMS Amin kann anschließend einen nucleophilen Angriff auf die C-5 Position des NCA Rings starten und es wird ein TMS Carbamat erzeugt. Durch einen Protonentransfer der TMS-Carbamat-Zwischenstufe zum Monomer wird der Wachstumsschritt der Polymerisation ausgelöst. Der Mechanismus der NCA Polymerisation initiiert durch HDMS ist in Abbildung 3.8 dargestellt. Neue Erkenntnisse dieser Arbeitsgruppe zeigen, dass durch Verwendung von N-TMS Aminen eine Einführung einer funktionellen Gruppe am Kettenende möglich ist, die für weitere Reaktionen wie zum Beispiel „Click-Chemie“ und der ringöffnenden Metathese Polymerisation zugänglich ist.<sup>[94]</sup>

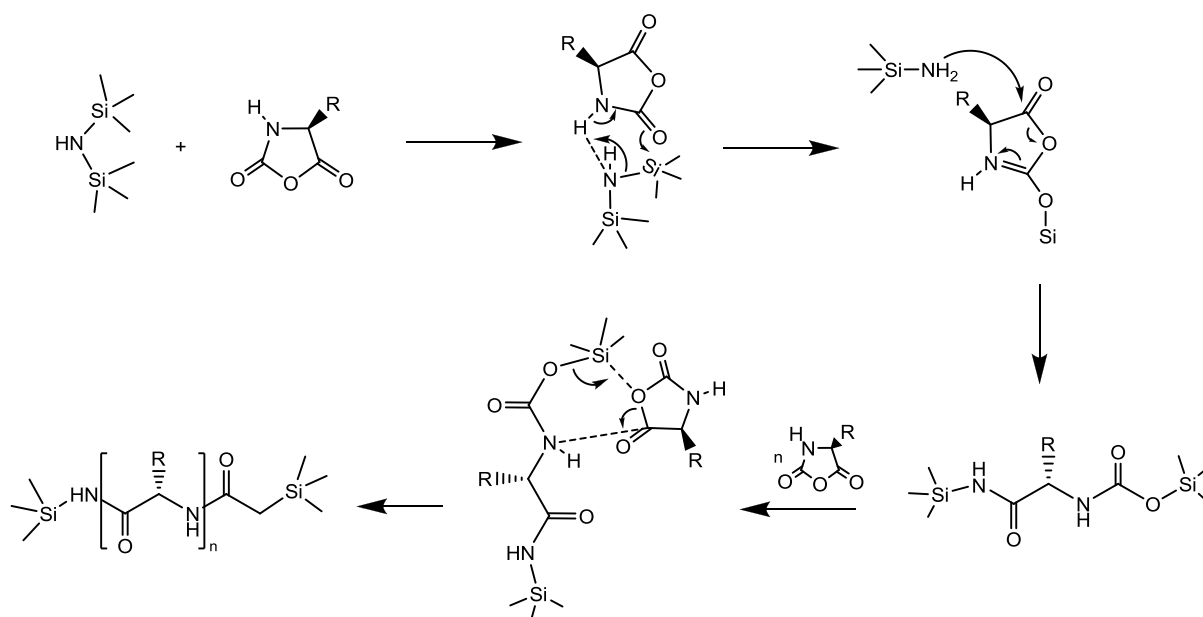


Abbildung 3.8: Polymerisationsmechanismus von NCA mit HDMS als Initiator.<sup>[34]</sup>

Eine andere Strategie zur Vermeidung der unerwünschten Nebenreaktionen in der kontrollierten NCA Polymerisation ist die Verwendung von Übergangsmetallkomplexen. Eine besonders erfolgreiche metall-vermittelnde Polymerisationsmethode für die Herstellung von hochmolekulargewichtigen Polypeptiden wurde von DEMING et al.<sup>[36-38]</sup> eingeführt und wird im Folgenden vorgestellt.

### 3.1.1.2 Nickel-initiierte NCA Polymerisation

DEMING et al. entwickelte eine neue Klasse von NCA Initiatoren auf Basis von Übergangsmetallkomplexen, die in der Lage sind, Kettenabbrüche der NCA Polymerisation zu vermeiden. So wird beispielsweise durch Komplexierung des Initiators die Nebenreaktion der Formamidbildung an der Amino-Endgruppe unterbunden. Mit der metall-vermittelten NCA Polymerisation werden Polypeptide mit kontrollierbaren Molekulargewichten ( $M_n = 500 - 500000 \text{ g/mol}$ ) und engen Molekulargewichtsverteilungen ( $M_w/M_n < 1,20$ ) bei Reaktionszeiten von nur 16 h erreicht.<sup>[38, 40, 90, 95]</sup> Außerdem lassen sich Blockcopolypeptide mit definierten Molekulargewichten, engen Molekulargewichtsverteilungen und kontrollierten Abfolgen sowie Zusammensetzungen verschiedener Aminosäuren herstellen.<sup>[96]</sup>

Als aktive bzw. initiiierende Spezies in der kontrollierten NCA Polymerisation fungiert ein Nickel-Amido-Amidat-Komplex. Dieser konnte anfangs nur *in situ* erzeugt werden, wodurch zuerst keine kontrollierte Funktionalisierung des Kettenendes der Polypeptide erzielt werden

konnte.<sup>[37]</sup> Aus diesem Grund wurde die Methode von DEMING et al. weiterentwickelt, so dass auch endfunktionalisierte Polypeptide synthetisiert werden können.<sup>[38]</sup> Der Nickel-Initiator wird ähnlich den Amin-Initiatoren als Endgruppe in das Polypeptid eingebaut. Durch eine Tandem-Additionsreaktion können Nickel-Amido-Amidat-Komplexe als propagierende Spezies aus Allyloxycarbonyl (Alloc)-aminoamiden als universelle Precursors direkt synthetisiert werden.<sup>[38]</sup> Der Nickel-initiierte Mechanismus ist schematisch in Abbildung 3.9 dargestellt.

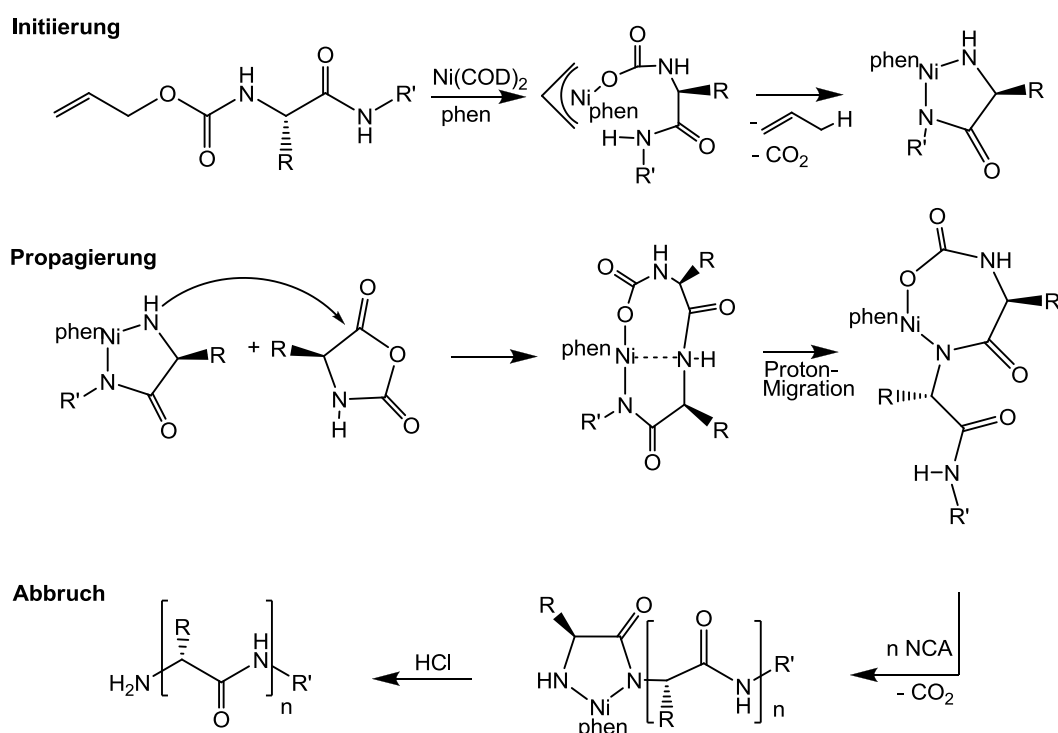


Abbildung 3.9: Mechanismus der Nickel-initiierten NCA Polymerisation nach DEMING.<sup>[38, 90]</sup>

Für die Darstellung der Nickel-Amido-Amidat Spezies wird  $\text{Ni}(\text{COD})_2$  mit einem  $\text{N}_\alpha$ -Allyloxycarbonyl-geschützten Amin umgesetzt. Die Reaktion wird durch eine oxidative Addition des Nickel(0)-Komplexes  $\text{Ni}(\text{COD})_2$  an das Amid über die Alloc-C-O-Bindung gestartet. Im folgenden Schritt insertiert das Nickel-Atom in die N-H-Bindung des Amids und es wird ein nicht isolierbares Nickelcarbammat gebildet, welches unter Eliminierung von  $\text{CO}_2$  und Propen in den Amido-amidat-Nickel-Metallazyklus übergeht. Im Propagierungsschritt greift die nucleophile Amidogruppe des Nickel-Amido-Amidat-Komplexes das elektrophile  $\text{C}_5$ -Carbonyl-Kohlenstoff-Atom des NCA Monomers an. Im Anschluss findet eine Wanderung des Protons vom freien Amid zur gebundenen Amidatgruppe statt. Schließlich kontrahiert der Metallazyklus unter  $\text{CO}_2$ -Abspaltung zum ursprünglichen Nickel-Amido-

Amidat-Komplex und steht für die weitere Addition von NCA zur Verfügung. Bei der Aufarbeitung wird der endständige Nickel-Komplex unter sauren Bedingungen zerstört und es resultiert ein Polypeptid mit einer primären Amino-Endgruppe.

Die Reaktion von  $N_\alpha$ -Alloc-Aminosäurederivaten mit Nickel(0)-Komplexen, wie  $Ni(COD)_2$  kann mit verschiedenen funktionellen Endgruppen  $R'$  und unterschiedlichen Donorliganden (z.B. 2,2'-Bipyridin (bpy), 1,10-Phenanthrolin (phen)) durchgeführt werden. Dadurch sind vielfältige Kombinationsmöglichkeiten von Aminosäuren und primären Aminen für die Herstellung dieser Initiatoren möglich. Die funktionellen Endgruppen  $R'$ , die über die  $N_\alpha$ -Alloc-Aminosäurederivate eingeführt werden, verbleiben während der Polymerisation am N-Atom der Amidgruppe. Diese Methode erlaubt die Synthese von definierten endfunktionalisierten Polypeptiden.

## 3.2 Selbstorganisation von polypeptidhaltigen Block- und Pfropfcopolymeren

Polypeptidhaltige Copolymere zeigen ein spezifisches Aggregationsverhalten sowohl in fester Phase als auch in Lösung. Wegen ihres spezifischen Aggregationsverhaltens werden Polypeptide mit einfachen synthetischen Polymeren kombiniert, was zu neuen Polymermaterialien mit einzigartigem Lösungs- und Festphasenverhalten führt. Besonders die polypeptidhaltigen Stäbchen-Knäuel Blockcopolymere und Pfropfcopolymere zeigen ein einzigartiges Aggregationsverhalten und werden im Folgenden kurz vorgestellt.

### 3.2.1 Aggregation von Stäbchen-Knäuel Blockcopolymeren

Eine spezielle Klasse von Blockcopolymeren stellen die Stäbchen-Knäuel Blockcopolymere dar. Blockcopolymere können eine Vielzahl verschiedener Morphologien im Festkörper, in dünnen Filmen und Lösungen einnehmen, die aus einem Selbstorganisationsprozess resultieren. Knäuel-Knäuel Diblockcopolymere, die aus chemisch ungleichen und inkompatiblen Segmenten bestehen, bilden eine Vielzahl von verschiedenen mikrophasenseparierten Strukturen aus, können aber wegen der kovalenten Bindung zwischen den beiden Blöcken keine Makrophasenseparation eingehen.<sup>[50]</sup> Die Selbstorganisation von Stäbchen-Knäuel Blockcopolymeren wird nicht allein durch die Mikrophasenseparation der einzelnen Blöcke bestimmt, sondern auch durch die Fähigkeit der starren Segmente anisotrope flüssigkristalline Domänen auszubilden.<sup>[60]</sup> Die Konkurrenz dieser beiden Prozesse führt zu Morphologien, die sich deutlich von den Knäuel-Knäuel Diblockcopolymeren unterscheiden. Des Weiteren steigt der Flory-Huggins Parameter  $\chi$  (welcher das Maß für die Inkompatibilität zweier Blöcke beschreibt) in Stäbchen-Knäuel Blockcopolymeren aufgrund der Asymmetrie der starren Segmente im Gegensatz zu den Knäuel-Knäuel Polymeren an. Die Konsequenz aus der Verbesserung des Flory-Huggins Parameter  $\chi$  ist die Selbstorganisation in phasenseparierten Strukturen schon bei kleinen Polymerisationsgraden. Wo die Phasenseparation bei Knäuel-Knäuel Diblockcopolymeren in Morphologien im Domänenbereich zwischen 10 und 100 nm erfolgt, haben bereits Stäbchen-Knäuel Diblockoligomere das Potenzial zur Selbstorganisation in Strukturen mit charakteristischen Längen von einigen Nanometern. Die Geometrie der Mikrodomänen wird durch den Volumenanteil  $f$  der beiden Blöcke A und B bestimmt. Stäbchen-Knäuel Blockcopolymere

können für die Herstellung von selbstorganisierenden nanostrukturierten Materialien eingesetzt werden, deren geringe Längenskalen mit Knäuel-Knäuel-Blockcopolymeren nicht erreicht werden können.<sup>[56]</sup> Zur Illustration der selbstorganisierten Strukturen von mikrophasenseparierten Blockcopolymeren ist folgende schematische Abbildung 3.10 gezeigt.

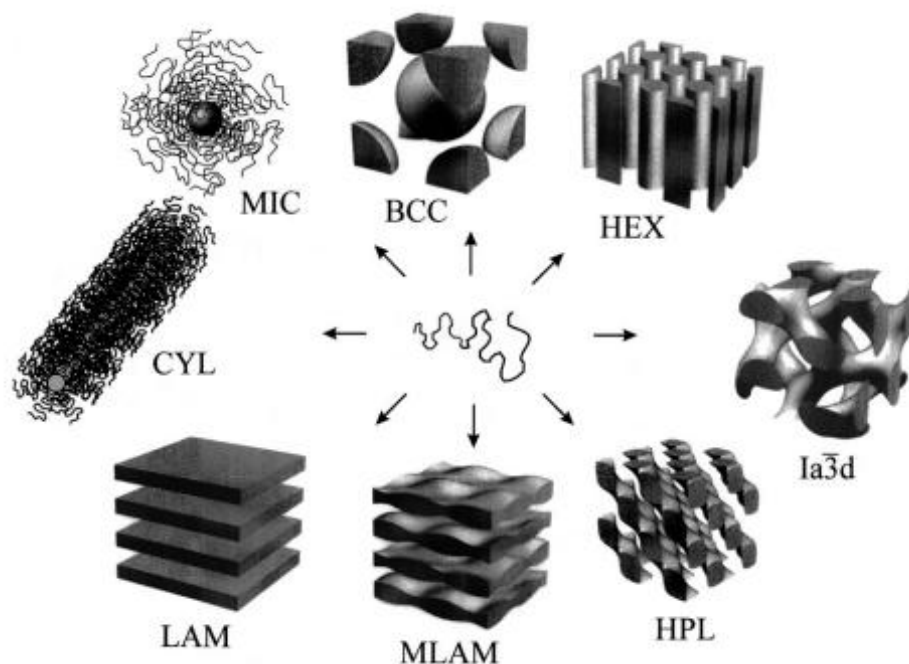


Abbildung 3.10: Bekannte Morphologien von mikrophasenseparierten Blockcopolymeren, BCC (body centered cubic): raumzentriert gepackte Kugeln, HEX = hexagonal geordnete Zylinder, Ia3d = Gyroid-Struktur, HPL (hexagonal perforated layers) = hexagonal, perforierte Schichten, MLAM (modulated lamellae) = modulierte Lamellen, LAM (lamellae) = Lamellen, CYL (cylindrical) = zylindrische Micellen, MIC (micelle) = sphärische Micellen). Grafik übernommen von FÖRSTER et al.<sup>[97]</sup>

In polypeptidhaltigen Stäbchen-Knäuel Blockcopolymeren besteht der stäbchenartige Block aus einem Polypeptid mit einer  $\alpha$ -helicalen Sekundärstruktur wie z.B. Poly( $\gamma$ -benzyl-L-glutamat) (PBLG) oder Poly-( $\epsilon$ -benzyloxycarbonyl-L-lysin) (PZLLys). Flexible Polymere, die im Festkörper und in Lösung eine geknäuelte, statistische Struktur einnehmen, bilden den Knäuel-Block. Der Selbstorganisationsprozess von polypeptidhaltigen Stäbchen-Knäuel Blockcopolymeren in Lösung wie auch im festen Zustand wurde von vielen Arbeitsgruppen intensiv untersucht. Pionierarbeit leistete die Gruppe von GALLOT et al., die die Morphologien von polydispersen peptidhaltigen Blockcopolymeren mit Vinylpolymeren wie Polybutadien (PB) oder PS als amorphes Segment und PBLG oder PZLLys als stäbchenförmiges Segment im festen Zustand untersuchten. Die Materialien zeigen eine lamellare supramolekulare Anordnung mit einer  $\alpha$ -helicalen Konformation des Polypeptids, das unabhängig von der



Zusammensetzung hexagonal gepackt ist (*hexagonal-in-lamellar*). Die hexagonal angeordneten Helices haben einen charakteristischen Abstand von 1,5 nm und sind innerhalb der alternierenden Schichten aus Polypeptiden und synthetischen Komponenten gepackt.<sup>[61, 98-100]</sup>

Tiefere Einblicke in die lamellare Morphologie von polypeptidhaltigen Stäbchen-Knäuel Blockpolymeren im festen Zustand konnte die Arbeitsgruppe von SCHLAAD erzielen.<sup>[101-104]</sup> Die Strukturen der Blockcopolymer PS-*b*-PBLG und PS-*b*-PZLLys zeigen eine wellenförmige lamellare oder zick-zack Morphologie, verursacht durch die hexagonale Packung von stäbchenförmigen Polypeptiden innerhalb der Schichten. Ein Unterschied der beiden Blockcopolymer konnte in den Schichtdicken beobachtet werden. Die Helices von PBLG-haltigen Blockcopolymeren sind doppelt gefaltet (s. Abbildung 3.11), die mit PZLLys als Block sind vollkommen gestreckt. Ebenso zeigte sich ein Unterschied in der Packung der Helices, wobei der Ordnungsgrad mit PBLG Helices niedriger ist. Eine Erklärung für die Rückfaltung der Helices und damit verbunden die geringere Ordnung, wird mit der Wechselwirkung des Lösungsmittels mit den Wasserstoffbrückenbindungen des helicalen Rückgrats begründet.<sup>[105]</sup> Die ungeordnete lamellare zick-zack-Morphologie wird durch die Kettenlängenverteilung der Helices beeinflusst.<sup>[106]</sup> Bei ansteigendem Unterschied der helicalen Länge entsteht eine größere Fluktuation, die sich in der Schichtdicke mit mehreren Krümmungen widerspiegelt. Eine schematische Präsentation der lamellaren Morphologien im festen Zustand von polypeptidhaltigen Stäbchen-Knäuel Blockcopolymeren ist in folgender Abbildung veranschaulicht.

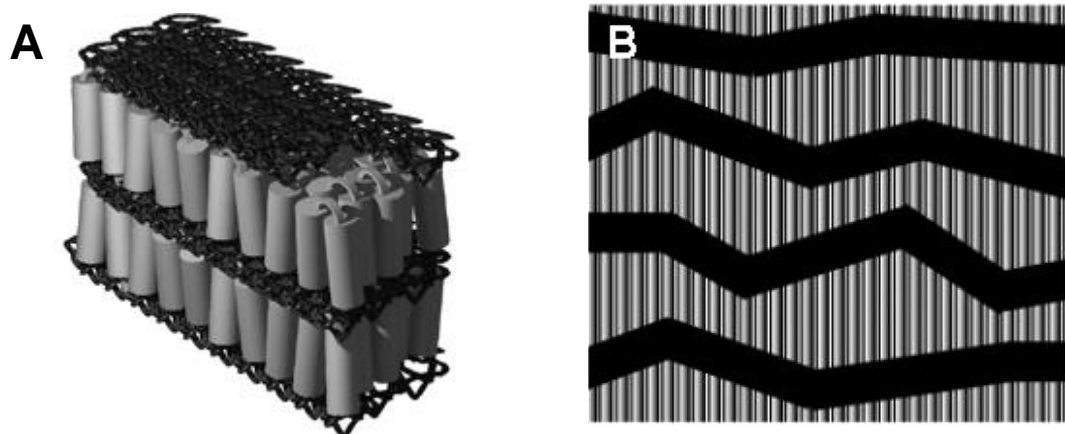


Abbildung 3.11: A) Schematisches Modell der hexagonal-in-lamellar Morphologie von PBLG-haltigen Stäbchen-Knäuel Blockcopolymeren<sup>[102]</sup> und B) Modell einer ungeordneten lamellaren zick-zack Morphologie von PS-*b*-PZLLys Blockcopolymeren mit mittleren Polydispersitäten (PD = 1,25)<sup>[106]</sup>.

Die supramolekulare Organisation von PS-*b*-PBLG Diblockoligomeren weisen andererseits eine *hexagonal-in-hexagonal* Morphologie auf, die sich von den lamellaren Strukturen unterscheidet.<sup>[60]</sup>

Weitere Erkenntnisse über das Selbstorganisationsverhalten von peptidhaltigen Blockcopolymeren in fester Phase konnten FLOUDAS und PAPADOPOULOS mit einem Triblockcopolymer PBLG-PEG-PBLG mittels SAXS und WAXS als Röntgenstreuungsmethoden erlangen.<sup>[79]</sup> Abhängig vom Volumenanteil  $f$  des Peptids können zwei Fälle unterschieden werden: Bei kleinem Volumenanteil von  $f < 0,26$  wird eine Mikrophasenseparation aller sekundären Strukturen ( $\alpha$ -Helices,  $\beta$ -Faltblätter und Kettenfaltung von PEG) beobachtet. Wenn aber der Volumenanteil von PBLG mit  $f > 0,4$  erhöht wird, resultiert an der Phasengrenzfläche eine Mischung der beiden Blöcke, dabei wird die  $\alpha$ -helicale Konformation als Sekundärstruktur in einer hexagonalen Anordnung bevorzugt (s. Abbildung 3.12).

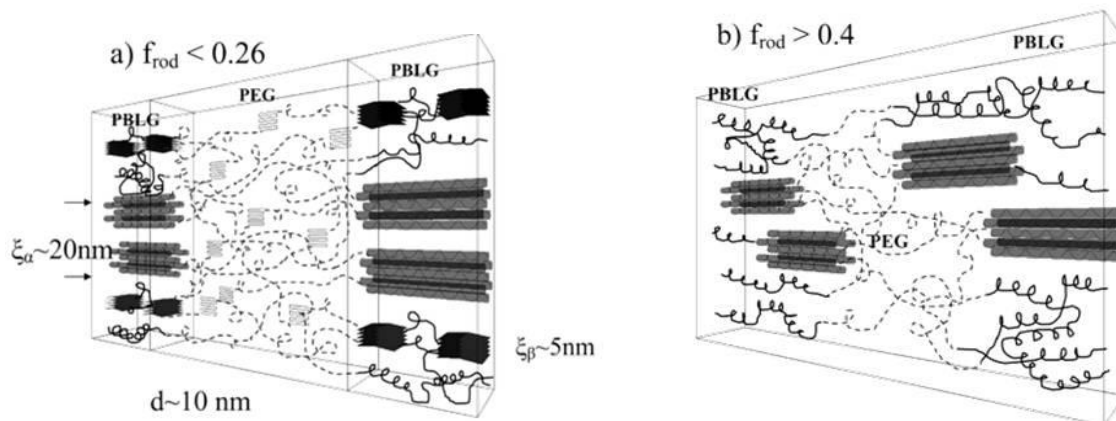


Abbildung 3.12: Schematisches Modell des Phasenzustandes von PBLG-PEG-PBLG: a) mit  $f < 0,26$  Mikrophasenseparation des Copolymers bestehend aus allen PBLG und PEG Sekundärstrukturen; b) Phasenzustand mit  $f > 0,4$  zeigt eine Phasemischung, welche nur eine Sekundärstruktur ( $\alpha$ -Helices) aufweist.<sup>[79]</sup>

Die Arbeitsgruppe von MEZZENGA untersuchte den Einfluss von verschiedenen molekularen Architekturen (Diblock, Triblock oder Sternblock) mit Poly(propylenoxid) (PPO) als Knäuel Polymer auf die sekundäre Struktur und des flüssigkristallinen Verhaltens von PBLG.<sup>[107]</sup> Für die Kontrolle der Selbstorganisation spielt der Polymerisationsgrad des PBLG Blocks und die PD des gesamten Blockcopolymers eine große Rolle. Wenn PBLG einen  $P_n > 20$  aufweist, wird in der lamellaren Phase die Mikrophasen- als auch Makrophasenseparation beobachtet,

die durch die Bildung von  $\alpha$ -helicalen Sekundärstrukturen unterstützt wird. Die Makrophasenseparation wird erst bei breiten PDs beobachtet.

BABIN et al. untersuchten den Einfluss der Architektur (linear und Miktoarmstern) auf die supramolekulare Organisation von wohldefinierten amphiphilen PS-*b*-(PGA)<sub>n=1;2</sub> Blockpolymeren (PD < 1,22) im festen Zustand.<sup>[84]</sup> Die Ergebnisse zeigen, dass der hydrophile PGA Block die Konformation der  $\alpha$ -Helix besser stabilisiert und somit eine bessere Ordnung in der lamellaren Phase herrscht, verglichen mit dem hydrophoben PBLG als Block. Auch hier wird für die Systeme unabhängig von der Zusammensetzung und Architektur eine *hexagonal-in-lamellar* (HL) Morphologie bestätigt. Die Auswirkung der makromolekularen Architektur spiegelt sich auf die lokale Organisation der PGA Helices wider, wobei die linearen Diblockcopolymere mit gefalteten PGA Helices und die Miktoarmsternpolymere nur eine geschichtete Packung ohne Faltung der Helices aufweisen. Die Arbeitsgruppe RODRÍGUEZ-HERNÁNDEZ konnte eine Beziehung der Selbstorganisation zwischen der Oberflächenmorphologie zur Sekundärstruktur von peptidhaltigen Triblockcopolymeren A-B-A mit Polydimethylsiloxan (PDMS) als Mittelblock in dünnen Filmen feststellen.<sup>[108]</sup> Mittels der Rasterkraftmikroskopie (*atomic force microscopy* = AFM) wurde für kurze PBLG Segmente mit einer Kettenlänge von 5 bis 20, aufgrund der zunehmenden Stabilität der  $\alpha$ -Helices, eine faserartige Struktur und für eine Kettenlänge über 20 eine lamellare Morphologie bestätigt.

Das Selbstorganisationsverhalten amphiphiler Blockcopolymere in Lösung führt zu einer Vielfalt mizellarer Strukturen. Von besonderem Interesse ist die supramolekulare Selbstorganisation in wässrigem Medium, da sie zu stabilen Vesikel (sogenannte „Peptosome“)<sup>[109]</sup> oder Mizellen führt und ein großes Potenzial für eine Reihe biologischer Anwendungen bietet. Beispiele sind biologische Vektoren, Schutzschalen für sensitive Enzyme oder Drug-Delivery-Systeme.<sup>[110-113]</sup> Dabei ist die erreichbare Größe der Mizellen mit 10 bis 200 nm vergleichbar mit der von Viren oder Lipoproteinen.<sup>[22]</sup> In wässrigen Systemen kann die Selbstorganisation von peptidhaltigen Blockcopolymeren in zwei Kategorien unterschieden werden: 1) Nanostrukturen mit Korona-bildenden Polypeptidsegmenten, die von Blockcopolymeren, bestehend aus einem hydrophoben Polymer z.B. Polybutadien (PB) oder Polystyrol (PS) und einem hydrophilen Polymer wie Poly(L-glutaminsäure) (PLGA) oder Poly(L-Lysin) (PLys), aufgebaut werden.<sup>[53, 55]</sup> 2) Selbstorganisation in Mizellen, gebildet von Blockcopolymeren, die aus einem hydrophoben Kern PBLG oder PZLL als

Peptidblock und einer solvatisierten Korona z.B. Poly(*N*-isopropylacrylamid) (PNIPAM) aufgebaut sind.<sup>[114-116]</sup> Eine besondere Klasse stellen dabei die „schizophrenen“ Mizellen dar, die sich abhängig vom pH-Wert von freien Polymerketten zu Mizellen organisieren und interessante reversible Selbstorganisationseigenschaften besitzen. Die Größenänderung der Mizellen wird durch den Helix-Knäuel Übergang des Polypeptides beeinflusst und ist reversibel.<sup>[22, 117]</sup> Die folgende Abbildung 3.13 zeigt ein Beispiel der reversiblen Selbstorganisation von Mizellen in Vesikel durch Änderung des pH-Wertes anhand des zwitterionischen Diblockpolypeptids PGA-*b*-PLys.<sup>[22]</sup> Im sauren Milieu bildet der PLys-Block die Korona und der  $\alpha$ -helicale PGA-Block den Kern. Bei niedrigen pH-Werten ist PGA protoniert und nimmt eine kompakte  $\alpha$ -helicale Struktur ein. Unter basischen Bedingungen ist PGA ionisiert und geht eine Knäuel-Konformation ein, so dass die Korona von dem PGA-Block und der Kern von dem protonierten PLys-Block gebildet werden.

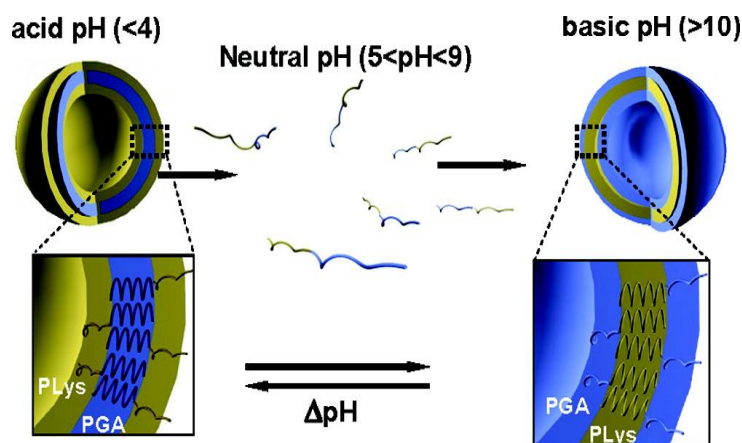


Abbildung 3.13: Schematische Präsentation der Selbstorganisation des Blockcopolymers PGA-*b*-PLys in Vesikel.<sup>[22]</sup>

Die Struktur und Aggregatgröße von amphiphilen polypeptidhaltigen Blockcopolymeren kann auch durch Änderung der Ionenkonzentration beeinflusst werden. CHECOT et al.<sup>[55]</sup> untersuchten den Einfluss der Salzkonzentration auf Form und Größe der supramolekularen Strukturen von PB-*b*-PGA Blockcopolymeren in wässriger Lösung. Abhängig von ihrer Zusammensetzung organisieren sich die Blockcopolymeren entweder zu Mizellen oder zu Vesikeln. Die Aggregatgröße dieser Strukturen konnte durch pH-Wert und Salzkonzentration reversibel manipuliert werden. Solche Polymersysteme haben gezeigt, dass sie erhebliche Vorteile bei der Kontrolle von Struktur und Funktion supramolekularer Selbstorganisation bieten.

Eine weitere interessante Klasse von polypeptidhaltigen Blockcopolymeren sind die doppelt-hydrophilen Blockcopolymere (DHBCs). Ein spezieller Fall sind die zweifach Stimuli-sensitiven Blockcopolymere, die meist aus dem pH-sensitiven Polypeptid als Block und einem thermosensitiven Polymer wie z.B. dem PNIPAM bestehen.<sup>[118-121]</sup> Solche „smarten“ Polymere können reversibel ihre physikochemischen Eigenschaften durch die Änderung der Temperatur, des pH-Werts oder der Ionenstärke wechseln. Das Blockcopolymer PNIPAM-*b*-PLGA zeigt bei der Bildung von Mizellen durch Änderung von pH und Temperatur, begleitet vom Helix-Knäuel Übergang im wässrigen Medium, ein „schizophrenes“ Verhalten. Unter alkalischen Bedingungen und bei Raumtemperatur ist PNIPAM-*b*-PLGA löslich. Erst bei höheren Temperaturen organisieren sich die Blockcopolymere zu Mizellen mit PNIPAM als Kern und PLGA als stabilisierende Korona. Der thermosensitive PNIPAM-Block besitzt eine untere kritische Löslichkeitstemperatur (LCST= lower critical solution temperature) von ~32 °C und fällt bei Temperaturerhöhung aufgrund der zunehmenden Hydrophobie im wässrigen Medium aus. Im sauren Milieu und bei Raumtemperatur ist PLGA als Kern der Mizelle lokalisiert und PNIPAM bildet die Korona.<sup>[118]</sup>

### 3.2.2 Aggregation von polypeptidhaltigen Pfropfcopolymeren in Lösung

Im Vergleich zu den linearen Blockcopolymeren bieten Pfropfcopolymere mehr Einflussparameter (Pfropfdichte, Seitenkettenlänge) auf das Selbstorganisationsverhalten, die die Eigenschaften verändern können. Wenn die Seitenkette zum Beispiel viel kürzer als das Rückgrat ist, nehmen die Pfropfcopolymere eine wurmförmige Konformation ein. Diese interessanten Strukturen können z.B. als eindimensionale Template für die Herstellung von Nanostrukturen, wie Nanoröhrchen oder Nanofäden genutzt werden.<sup>[68]</sup> Daher ist es für das weitere Verständnis wichtig, die Selbstorganisation von Pfropfpolymeren, die normalerweise viel komplexer ist als die ihrer linearen Analoga, zu untersuchen.

Die Arbeitsgruppe CAI et al. beschäftigte sich intensiv mit dem Selbstorganisationsverhalten von polypeptidhaltigen Pfropfcopolymeren.<sup>[21, 69, 71]</sup> Es wurde z.B. das Selbstorganisationsverhalten in Lösung von Stäbchen-Knäuel Pfropfpolymeren mit PBLG als starres Rückgrat und PEG als flexible Seitenketten untersucht.<sup>[69]</sup> Einen großen Einfluss auf das Selbstorganisationsverhalten haben die Wahl des Lösungsmittels, die Konzentration und die Pfropfdichte. Die PBLG-*g*-PEG Pfropfcopolymere organisierten sich mit ansteigender

Pfropfdichte in Lösung ausgehend von Vesikel zu spindelförmigen Mizellen und bei höheren Pfropfdichten zu sphärischen Mizellen. Interessant ist außerdem, dass alle Circular dichroismus (CD) Spektren der PBLG-*g*-PEG Polymere in THF den gleichen  $\alpha$ -helicalen Gehalt von ca. 90 % aufwiesen, was bedeutet, dass die PEG Seitenketten einen sehr schwachen Einfluss auf die Sekundärstruktur haben. In einer weiteren Arbeit wurde die Aggregatbildung von amphiphilen Bürsten-Knäuel Blockcopolymeren mit dem hydrophilen PEG als flankierende Gruppe und einer polypeptidhaltigen Bürste als hydrophobes Segment im wässrigen Medium auf ihre Morphologie untersucht. Die Synthese von PEG-*b*-(PELG-*g*-PBLG) (PELG = Poly((2-aminoethyl)-L-glutamat)) Bürsten-Knäuel Blockcopolymer erfolgte über die „*grafting-from*“ Methode mit PEG-*b*-(PELG-NH<sub>2</sub>) als Makroinitiator für die ROP von NCA.<sup>[71]</sup> Mit ansteigender PBLG Bürstenlänge ändert sich die Morphologie dieser Aggregate von sphärischen zu spindelförmigen Mizellen, bis hin zu zylindrischen Mizellen. Aufnahmen von TEM Bildern sowie eine schematische Darstellung der entstehenden Morphologien solcher Pfropfcopolymere in Abhängigkeit der Bürstenlänge sind in folgender Abbildung veranschaulicht.

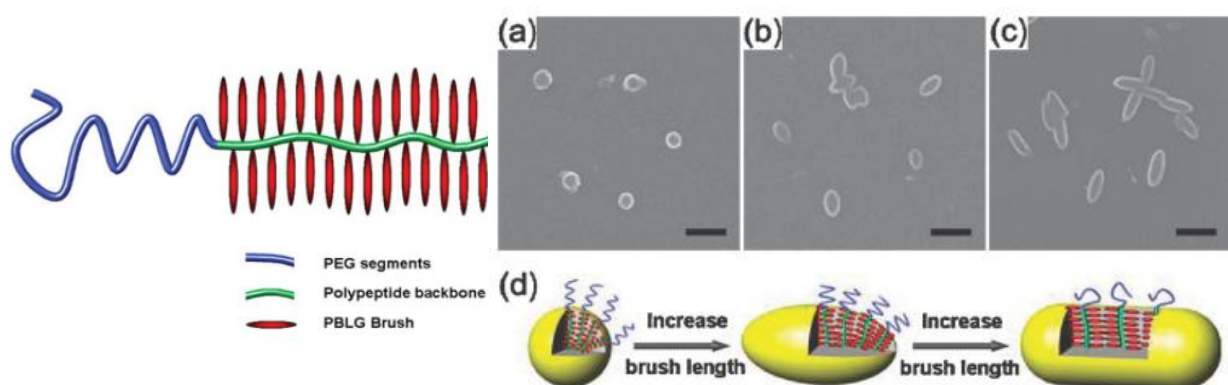


Abbildung 3.14: Schematische Zeichnung des PEG-*b*-(PELG-*g*-PBLG) (PELG = Poly((2-aminoethyl)-L-glutamat)) Bürsten-Knäuel Blockcopolymeren (links); (a–c) TEM Bilder der Aggregate von PEG-*b*-(PELG-*g*-PBLG) Bürsten-Knäuel Blockcopolymeren mit ansteigender PBLG Bürstenlänge d) Schematische Präsentation der Morphologien von sphärischen, spindelförmigen und zylindrischen Aggregaten mit ansteigender PBLG Bürstenlänge.<sup>[21, 71]</sup>

Wasserlösliche und amphiphile PCL-*g*-PLL Pfropfpolymeren wurden über die „*grafting-onto*“ oder „*grafting-from*“ Methode hergestellt und bilden abhängig von der gewählten Synthesestrategie Mizellen mit einem Durchmesser zwischen 60 und 500 nm aus.<sup>[122]</sup> Erst kürzlich wurde in einer Arbeit von WANG et al. über die kontrollierte supramolekulare Polymerisation von Polypeptidbürsten berichtet.<sup>[123]</sup> Als Polypeptidbürste wurde das Poly(norbornen)-*g*-Poly(L-glutaminsäure) PN<sub>11</sub>-*g*-PLG<sub>101</sub> als makromolekulares Monomer

eingesetzt und für die supramolekulare Polymerisation im wässrigen Medium bei pH 7 untersucht, da dort der Helix-Knäuel Übergang vorliegt. Durch hochspezifische intermolekulare Wechselwirkungen zwischen makromolekularen Monomeren kann das kooperative Wachstum der Polymere ermöglicht werden (schematische Darstellung s. Abbildung 3.15). Der Verlauf der supramolekularen Polymerisation wurde mittels TEM und DLS verfolgt. Große röhrenförmige Strukturen in Lösung konnten innerhalb von 7 Tagen mit einer Länge bis zu 30  $\mu\text{m}$  und einem Durchmesser von  $170 \pm 20 \text{ nm}$  beobachtet werden.

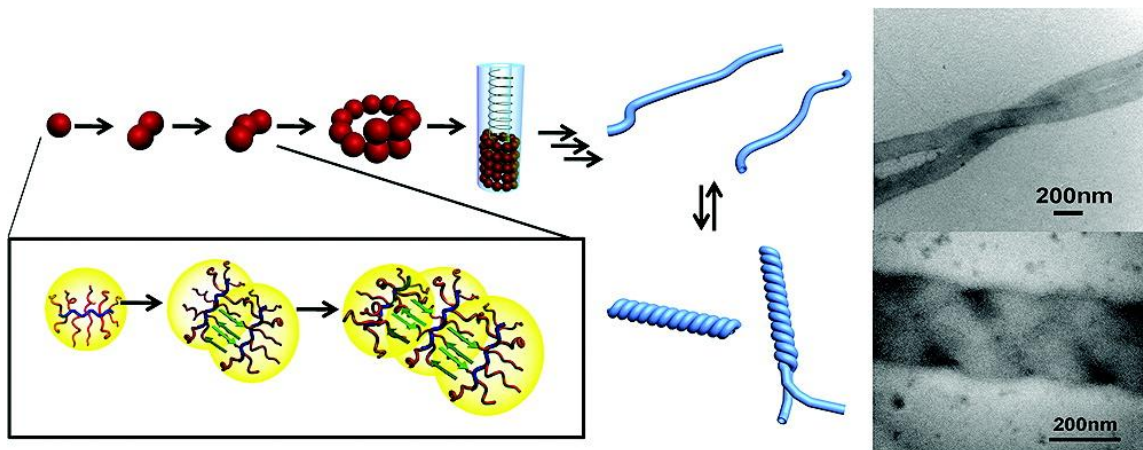


Abbildung 3.15: Schematische Präsentation der supramolekularen Polymerisation von Polypeptidbürsten zu röhrenförmigen Suprastrukturen; rechts: TEM Aufnahmen der supramolekularen Strukturen von (PN-g-PLGA<sub>101</sub>)<sub>11</sub> Polymeren in Lösung; Grafik übernommen von WANG et al. <sup>[123]</sup>

Einen interessanten Beitrag zur supramolekularen Strukturkontrolle von zylindrischen Polypeptidbürsten konnte die Arbeitsgruppe SCHMIDT geben. Sie untersuchten den Einfluss von Tensiden, Salzkonzentration und pH-Wert auf die helicale Strukturbildung von zylindrischen PZLL Polymerbürsten im wässrigen Medium und an Luft.<sup>[124]</sup> Aufgrund der Wechselwirkungen des hydrophoben Tensids SDS mit den Polyelektrolytketten können erst bei bestimmter Alkylkettenlänge des Tensids ( $n = 10 - 12$ ) Helices ausgebildet werden. In Abbildung 3.16 ist eine dreidimensionale (3D) AFM-Präsentation der helicalen Strukturbildung von Polymerbürsten dargestellt.

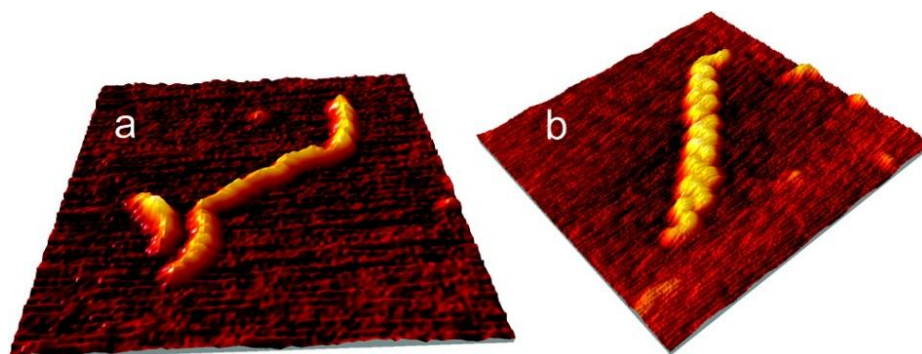


Abbildung 3.16: 3D Präsentation von zylindrischen Bürsten (a) und einer helicalen Bürste (b). <sup>[124]</sup>



Die Polymerbürsten sind interessante Modellsysteme, die sich für experimentelle Untersuchungen der Polymereigenschaften eignen. Diese Moleküle können durch Rasterkraftmikroskopie visualisiert werden. Dadurch ist es möglich einzelne Polymermoleküle zu beobachten; wie sie sich bewegen, anordnen und auf der Oberfläche reagieren.<sup>[125]</sup> In Lösung nehmen die Polymerbürsten eine wurmförmige Konformation ein, die durch die Länge pro Monomer ( $l_m$ ), Bürstendurchmesser ( $D$ ) und Persistenzlänge ( $l_p$ ) charakterisiert werden kann. Die molekulare Dimension ist vom Polymerisationsgrad der Seitenketten und der Pfropfdichte des Rückgrats abhängig. Mithilfe einer entwickelten Charakterisierungsmethode von SHEIKO et al. kann die Molekulargewichtsverteilung von zylindrischen Bürsten über eine Kombination des Langmuir-Blodgett (LB) Verfahrens und der AFM Technik bestimmt werden.<sup>[126]</sup> Die Visualisierung von Monoschichten mit AFM erlaubt bei einer guten Messeinstellung die molekulare Dichte (Anzahl der Moleküle/Fläche) zu bestimmen, während die LB Technik Information über die Massendichte (Masse/Fläche) gibt. Aus dem Verhältnis der Massendichte zu Molekulardichte kann das Molekulargewicht bestimmt werden. Das nachfolgende Beispiel von TANG und ZHANG et al. veranschaulicht die Bestimmung des Molekulargewichts mit dieser Methode (s. Abbildung 3.17).<sup>[76]</sup> Allerdings gestaltet sich die Methode zur Bestimmung der Molekulargewichtsverteilung als eher schwierig, da eine große Diskrepanz zwischen den ermittelten Werten der AFM Technik ( $PD = 1,33$ ) und GPC ( $PD = 1,18$ ) vorliegt.

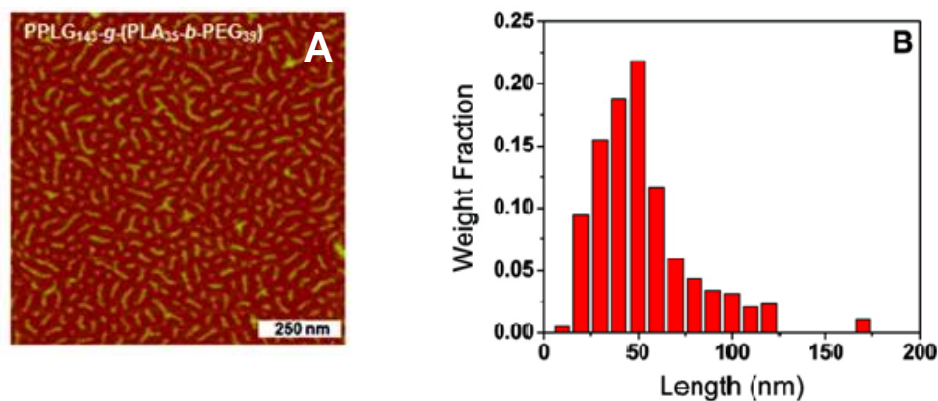


Abbildung 3.17: (A) AFM Aufnahme des  $PPLG_{143}-g-(PLA_{35}-b-PEG_{39})$  und (B) die molekulare Längenverteilung gemessen durch AFM für eine Auswahl von 448 Molekülen.<sup>[76]</sup>



### 3.3 Synthese von polypeptidhaltigen makromolekularen Architekturen

Die neuen Aspekte in der „lebenden“ ROP von NCA erlauben den Zugang zu neuen peptidhaltigen Materialien mit verschiedenen, eindeutig definierten Architekturen. In den letzten Jahren hat sich die Aufmerksamkeit auf die Synthese und Charakterisierung von zyklischen Homopolypeptiden, statistischen Copolymeren und Blockcopolymeren, Hybridblockcopolymeren, Sternpolymeren und komplexeren Architekturen, wie Pfropf und hochverzweigten Polymeren zunehmend verstärkt. Die Fortschritte der Synthesemethoden erlauben die Herstellung von Polypeptiden und Polypeptidhybriden, die sich auf eine kontrollierte Art und Weise zu supramolekularen Architekturen und Materialien, die Strukturen und Funktionalitäten von Proteinen nachahmen, organisieren können.<sup>[87]</sup> In den folgenden Kapiteln soll ein Literaturüberblick über die Synthese und Charakterisierung von Polypeptiden mit sternförmiger Architektur, Pfropfpolypeptiden und peptidhaltigen Stäbchen-Knäuel Blockcopolymeren gegeben werden, da diese Architekturen ein wesentlicher Bestandteil der vorliegenden Arbeit sind. Für die Darstellung solcher komplexen Architekturen kann als effektives Werkzeug die Kupplungsmethode „Click-Chemie“ dienen.

Im Jahre 2002 entdeckten SHARPLESS<sup>[127]</sup> und MELDAL<sup>[128]</sup> unabhängig voneinander die Kupfer(I) katalysierte Variante der klassischen HUISGEN 1,3-dipolaren Azid-Alkin Cycloaddition.<sup>[129]</sup> Heutzutage wird die „Click-Chemie“ häufig angewandt, um komplexe makromolekulare Strukturen herzustellen.<sup>[130, 131]</sup> Die Kriterien der „Click-Chemie“ beinhalten hohe Ausbeuten (häufig über 95 %) sowie eine schnelle, irreversible und hochselektive Reaktion bei milden Reaktionsbedingungen. Die Kupfer(I)-katalysierte Cycloaddition ist unempfindlich gegenüber Sauerstoff und Wasser und toleriert eine große Bandbreite an funktionellen Gruppen. Es können wässrige oder organische Lösungsmittel eingesetzt werden. Des Weiteren erlaubt die Cycloaddition Umsetzungen über einen großen Temperatur- (25 °C – 80 °C) und pH-Bereich (4 - 12). Die HUISGEN 1,3-dipolare Cycloaddition ist ein exergonischer Fusionsprozess zwischen den ungesättigten Reaktanten, Aziden und Alkinen, wobei regioselektive 1,4-substituierte 1,2,3-Triazole entstehen, die thermisch wie auch hydrolytisch stabil sind (s. Abbildung 3.18).

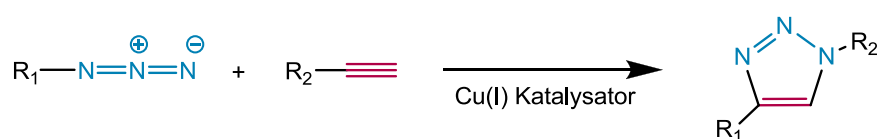


Abbildung 3.18: Kupfer(I) katalysierte 1,3-dipolare Cycloaddition von Aziden und Alkinen.

Die hohe kinetische Stabilität der Azide und Alkine ist ein großer Vorteil in der Kupfer(I)-katalysierten Cycloaddition, da diese Gruppen chemisch inert gegenüber weiteren anwesenden Funktionalitäten in dieser Reaktion sind. Die Cycloaddition wird bereits bei Raumtemperatur durch das Katalysatorsystem stark beschleunigt. Der vorgeschlagene Mechanismus für den katalytischen Zyklus ist in Abbildung 3.19 dargestellt. Er startet mit der Bildung eines Kupfer(I)acetylids **I**. Anschließend erfolgt eine [2+3] Cycloaddition des Acetylids mit dem Azid zu einem Kupfer-Acetylid-Azid Komplex **II**, welcher über einen 6-gliedrigen Übergangszustand **III** verläuft. Dieser katalytische Prozess bildet 1,4-disubstituierte 1,2,3-Triazole mit hervorragenden Ausbeuten und nahezu perfekter Regioselektivität. Die Cu(I)-Katalysatoren können entweder zu Beginn zum Reaktionsmedium gegeben werden oder *in situ* durch ein Cu(II) Salz erzeugt werden. Ein bekanntes Beispiel ist der Cu(I)Br ATRP-basierte Katalysator, gelöst durch einen Stickstoff-Liganden wie z.B. N,N,N',N'',N''-Pentamethyldiethylenetriamin (PMDETA).<sup>[132]</sup>

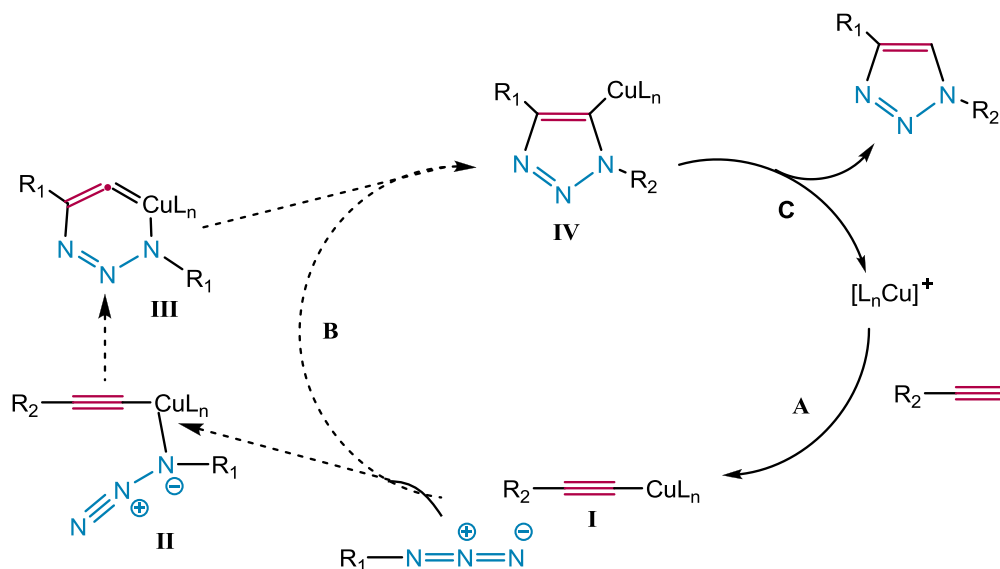


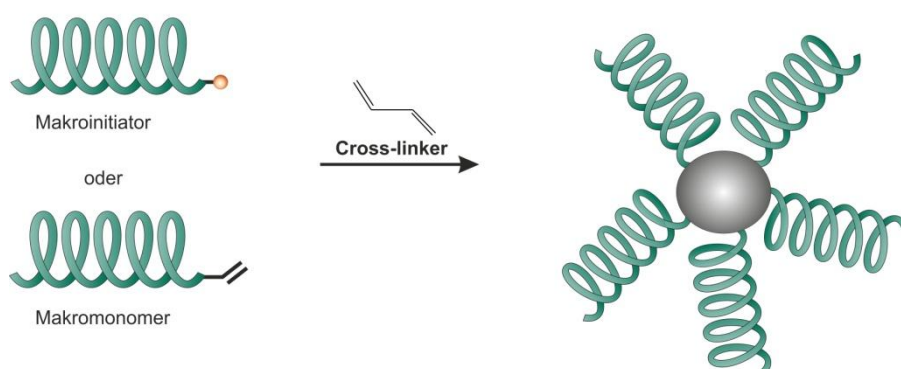
Abbildung 3.19: Vorgeschlagener Mechanismus der Kupfer(I)-katalysierten 1,3-dipolaren Cycloaddition nach SHARPLESS<sup>[127]</sup>.

### 3.3.1 Herstellung von sternförmigen Polypeptiden

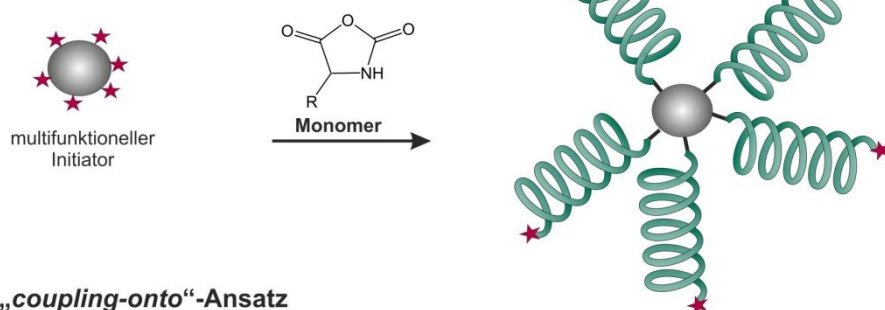
Symmetrische Sternpolymere sind verzweigte Polymere, die aus identisch linearen Ketten bestehen und zu einem zentralen Kern verknüpft sind. Im Vergleich zu ihren linearen Analoga besitzen Sternpolymere interessante Eigenschaften aufgrund der kompakten

dreidimensionalen Struktur und des globulären Charakters.<sup>[47]</sup> In polypeptidhaltigen Sternpolymeren wird als Folge dieser dreidimensionalen Form eine Verbesserung der tertiären Struktur beobachtet. Diese grundlegende Voraussetzung ist wichtig, um solche Polypeptide als künstliche Proteine oder Container-Moleküle agieren zu lassen.<sup>[43]</sup> Für die Synthese von wohldefinierten Sternpolymeren mit Polypeptidarmen sind drei synthetische Methoden entwickelt worden (s. Abbildung 3.20). Im Allgemeinen werden vorzugsweise die beiden Strategien des „*core-first*“-Ansatzes mit multifunktionellen Initiatoren und der „*coupling-onto*“-Ansatz mit multifunktionellen Verknüpfungsreagenzien angewandt.

### 1.) „*arm-first*“-Ansatz



### 2.) „*core-first*“-Ansatz



### 3.) „*coupling-onto*“-Ansatz

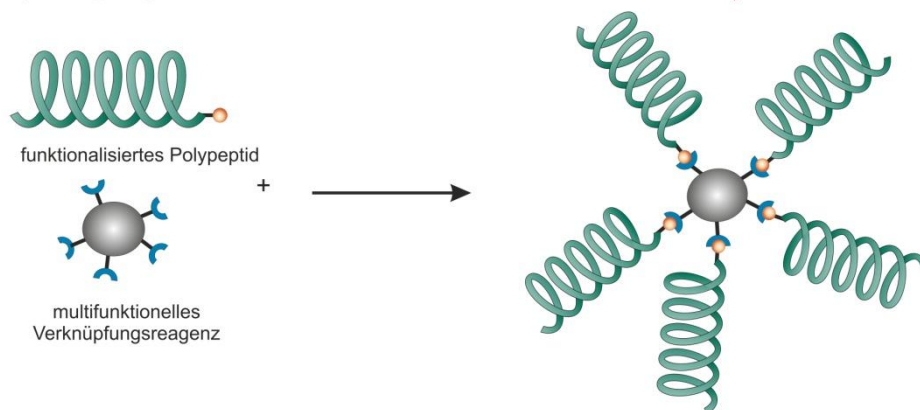


Abbildung 3.20: Synthetische Ansätze für die Herstellung von Sternpolymeren mit Polypeptidarmen über kontrollierte Polymerisationstechniken: 1.) „*arm-first*“-Ansatz, 2.) „*core-first*“-Ansatz und 3.) „*coupling-onto*“-Ansatz.

### **„Arm-first“-Ansatz**

In dieser Methode werden Makroinitiatoren oder Makromonomere als Polymerarme mit einem difunktionellen vinyllischen Vernetzer umgesetzt. Während der Polymerisation werden Mikrogele von festen vernetzten Polymeren erzeugt. Die Funktionalität der Sternpolymere kann durch Molekulargewichtsmessungen der Arme und Sterne bestimmt werden. Diese Methode hat jedoch einige Nachteile wie z.B. die Kontrolle über die Anzahl der Arme. Die Anzahl der Arme, die in der Sternstruktur eingebaut sind, werden durch viele Parameter beeinflusst und die Sterne zeigen häufig eine breite Verteilung.<sup>[133]</sup> Zusätzlich werden oftmals die Polymerarme nicht vollständig umgesetzt, was bedeutet, dass durch Fraktionierung oder Dialyse die Sterne von nicht reagierten Polymerarmen abgetrennt werden müssen. Der wichtigste Parameter ist das molare Verhältnis von Polymerarm zu difunktionellem Vernetzer. Dessen ungeachtet, ermöglicht diese Methode Sterne mit einer großen Anzahl an Armen (> 100) zu synthetisieren.<sup>[134]</sup> Der Ansatz wird in der Literatur für die Synthese von wohldefinierten polypeptidhaltigen Sternpolymeren aufgrund der erwähnten Vielzahl von Nachteilen aber kaum verfolgt.

### **„core-first“-Ansatz**

Bei diesem Ansatz werden multifunktionelle Initiatorverbindungen verwendet. Die funktionellen Gruppen initiieren die Polymerisation des Monomers zur Bildung der Arme des Sternpolymers. Ein multifunktioneller Initiator muss für die Darstellung von wohldefinierten Sternpolymeren mit gleichförmigen Armen folgende Voraussetzungen erfüllen: a) alle Initiatorgruppen müssen gleich reaktiv sein und b) die Initiierungsgeschwindigkeit muss höher als die Wachstumsgeschwindigkeit sein. Die Charakterisierung bei diesem Ansatz ist schwierig, da die Molekulargewichte der einzelnen Arme nicht direkt analysiert werden können. Die Anzahl der Arme kann indirekt durch mehrere Methoden, wie z.B. der Endgruppenanalytik oder Bestimmung des Verzweigungsparameters analysiert werden. Letztendlich kann durch Abspaltung der Arme vom Kern z.B. durch Hydrolyse, die Funktionalität bestimmt werden.<sup>[133, 135]</sup>

Der „core-first“-Ansatz ist am weitesten in der Literatur für die Synthese von Sternpolymeren mit Polypeptidarmen verbreitet. Z.B. synthetisierten KLOK et al.<sup>[46]</sup> fluoreszierende 4-arm PBLG und PZLL Sterne über Perylenderivate mit primären Aminendgruppen als tetrafunktionelle Initiatoren. Es konnten zwar große Sterne mit einem Molekulargewicht bis zu 205000 g/mol hergestellt werden, allerdings war die Molekulargewichtsverteilung durch

die Zunahme der Kettenabbruchsreaktionen in der amin-initiierten Polymerisation von NCA<sup>[27]</sup> für längere Polypeptide ( $P_n > 400$ ) sehr hoch. Hexafunktionelle Initiatoren für die Synthese von 6-arm PBLG Sternen wurden von INOUE et al. entwickelt.<sup>[47]</sup> Es konnten nur bei geringen Polymerisationsgraden ( $P_n < 10$ ) wohldefinierte Sterne erhalten werden. Für Strukturen mit höheren Molekulargewichten ( $P_n > 33$ ) wurden breitere Molekulargewichtsverteilungen erhalten und ein zweiter zusätzlicher Peak in der GPC beobachtet. D.h. die Aminogruppen initiieren die Polymerisation nicht alle gleichzeitig und führen so zu einer unkontrollierten Reaktion. Auch Dendrimere mit spezifischer Anzahl von primären Aminogruppen werden als multifunktionelle Initiatoren für die Polymerisation von NCAs genutzt.<sup>[44]</sup> Häufig werden die kommerziell erhältlichen Poly(amidoamin) (PAMAM) oder Poly(propylenimin) (PPI) Dendrimere in verschiedenen Generationen für die Synthese von verzweigten Sternpolymeren eingesetzt.<sup>[43, 136-138]</sup> Nähere Untersuchungen der tetrafunktionellen Dendrimere PPI und PAMAM für die Synthese von 4-arm PZLL-*b*-PBLG Sterncopolypeptiden ergaben, dass die tertiären Aminogruppen der Dendrimere einen Einfluss auf die ROP von NCA haben.<sup>[139]</sup> Die tertiären Gruppen können ebenfalls die NCA Polymerisation initiieren, was zu Nebenreaktionen durch die Bildung von linearen Polypeptiden im Sternpolymer führt.

### **“coupling-onto”-Ansatz**

Die „coupling-onto“-Strategie kann als eine Kombination aus kontrollierter Polymerisationstechnik mit anschließender Kupplungsreaktion betrachtet werden. Die Polypeptidarme werden zunächst über die ROP von NCA hergestellt und mit einem multifunktionellen Verknüpfungsreagenz, welcher als Kern fungiert, gekuppelt. Diese Methode scheint am effektivsten zu sein, da eine absolute Kontrolle über alle Synthesestufen erreicht werden kann. Die Funktionalität der Verknüpfungsreagenzien bestimmt die Anzahl der Arme des Sternpolymers, vorausgesetzt die Kupplungsreaktion ist quantitativ. Ein weiterer großer Vorteil ist die Möglichkeit, die Arme vor der Verknüpfungsreaktion zum Stern zu charakterisieren. Somit kann die Funktionalität des Sterns mit großer Genauigkeit analysiert werden. Allerdings ist für die Darstellung reiner Sternpolymere eine Fraktionierung notwendig, da für eine vollständige Kupplungsreaktion in der Regel ein kleiner Überschuss an Polypeptidarmen eingesetzt wird.

Die Arbeitsgruppe HADCHICHRISTIDIS<sup>[49]</sup> setzte die Kupplungsreaktion für die Synthese von PBLG und PZLL 3-arm Sternpolypeptiden und PZLL-*b*-PBLG 3-arm Sternblockcopolymeren mit einem Triisocyanatderivat als multifunktionelles Verknüpfungsreagenz ein. Die Kupplungsreaktion dauerte allerdings für die Herstellung der Block- bzw. Homopolypeptidsterne 2 bzw. 4 Wochen. Für eine quantitative Kupplungsreaktion wurde ein hoher Überschuss an Polypeptidketten von etwa 30 bis 40 % benötigt. Reine 3-arm Sternpolymere wurden durch die eingesetzte Aussalzungstechnik mit LiBr erhalten. Die Arbeitsgruppe konnte wohldefinierte 3-arm Sterncopolypeptide mit großen Molekulargewichten bis zu 178000 g/mol und engen Molekulargewichtsverteilungen herstellen. Untersuchungen dieser Sterncopolypeptide auf die Selbstorganisation zeigen einen Effekt auf die Phasenseparation. Im Gegensatz zu den linearen Blockcopolypeptiden besitzen sternförmige Copolypeptide eine eher schwache Phasenseparation. Die  $\alpha$ -Helices sind in einem pseudohexagonalen Gitter angeordnet, was mit der Verkürzung der Persistenzlänge der Helices, die in Sternen vorliegt, begründet wird.<sup>[140]</sup> In einer anderen Arbeit wurden von KUO et al. dreidimensionale PBLG-haltige Sternpolymere mittels der „Click-Chemie“ an octa-azido-funktionalisierten POSS (Polyhedral oligomeric Silsesquioxane) mit Alkin-funktionalisiertem PBLG synthetisiert.<sup>[48]</sup> Durch den Einsatz von POSS als Kern konnte die Bildung der  $\alpha$ -helicalen Konformation in PBLG aufgrund der Wechselwirkung der Wasserstoffbrückenbindungen zwischen PBLG und POSS in der festen Phase positiv beeinflusst werden. Die PBLG-*b*-POSS Sternpolymere weisen zudem eine höhere Stabilität der Konformation als die linearen PBLG auf.

Für die vorliegende Arbeit wird der vielversprechende „*coupling-onto*“-Ansatz gewählt, da der Fokus auf der Verwendung von kontrollierten Polymerisationsmethoden für die Darstellung von wohldefinierten PBLG-haltigen Sternhomopolymeren liegt. Des Weiteren liegt der große Vorteil in der Charakterisierung der Sternpolymere, die im Gegensatz zu der „*core-first*“-Methode zugänglicher ist.

### 3.3.2 Herstellung von Polypeptidbürsten

Polymerbürsten sind besondere Makromoleküle, deren Konformation und physikalische Eigenschaften durch die sterische Abstoßung der dicht gepfropften Seitenketten kontrolliert werden. Abhängig von der Pfropfdichte und der Länge der Seitenketten können die Polymere entweder flexibel oder starr sein und sich in der Struktur unterscheiden. Bei hoher Pfropfdichte führt die sterische Abstoßung zwischen den Seitenketten zu einer Verbesserung der Festigkeit des Rückgrats mit einzigartigen Eigenschaften, die sich von linearen Polymeren unterscheiden. Die Polymerketten können an verschiedene Substrate gepfropft werden wie z.B. an lineare Polymerketten (zylindrische Bürsten, eindimensional), planare Oberflächen (zweidimensional)<sup>[141-143]</sup> und sphärische Partikel (dreidimensional)<sup>[144]</sup> und unterscheiden sich dann entsprechend in ihrer Topologie.

#### 3.3.2.1 zylindrische Polypeptidbürsten

Die zylindrischen Polymerbürsten sind Bürsten mit dicht gepfropften Seitenketten an einem linearen Polymerrückgrat (idealerweise trägt jede Monomereinheit der Hauptkette eine Seitenkette). Um eine zylindrische Form zu erhalten, müssen die Seitenketten viel kürzer als das Rückgrat sein. Zylindrische Polymerbürsten, auch molekulare Flaschenbürsten genannt, unterscheiden sich aufgrund der wurmförmigen Konformation und der kompakten molekularen Dimension von ihren linearen Polymeranaloga im Sekundärstrukturverhalten.<sup>[68, 145]</sup>

Es gibt drei allgemeine Strategien für die Synthese von Polymerbürsten: a) „*grafting-through*“, b) „*grafting-from*“ und c) „*grafting-onto*“ Strategie, die in der Abbildung 3.21 schematisch dargestellt sind. Bei jeder dieser Strategien werden die strukturellen Parameter wie chemische Zusammensetzung, Pfropfdichte und Polymerisationsgrad der Seitenkette und des Rückgrats unterschiedlich kontrolliert. Im Folgenden werden kurz die Vor- und Nachteile der einzelnen Strategien für die Darstellung von zylindrischen Polypeptidbürsten erläutert.

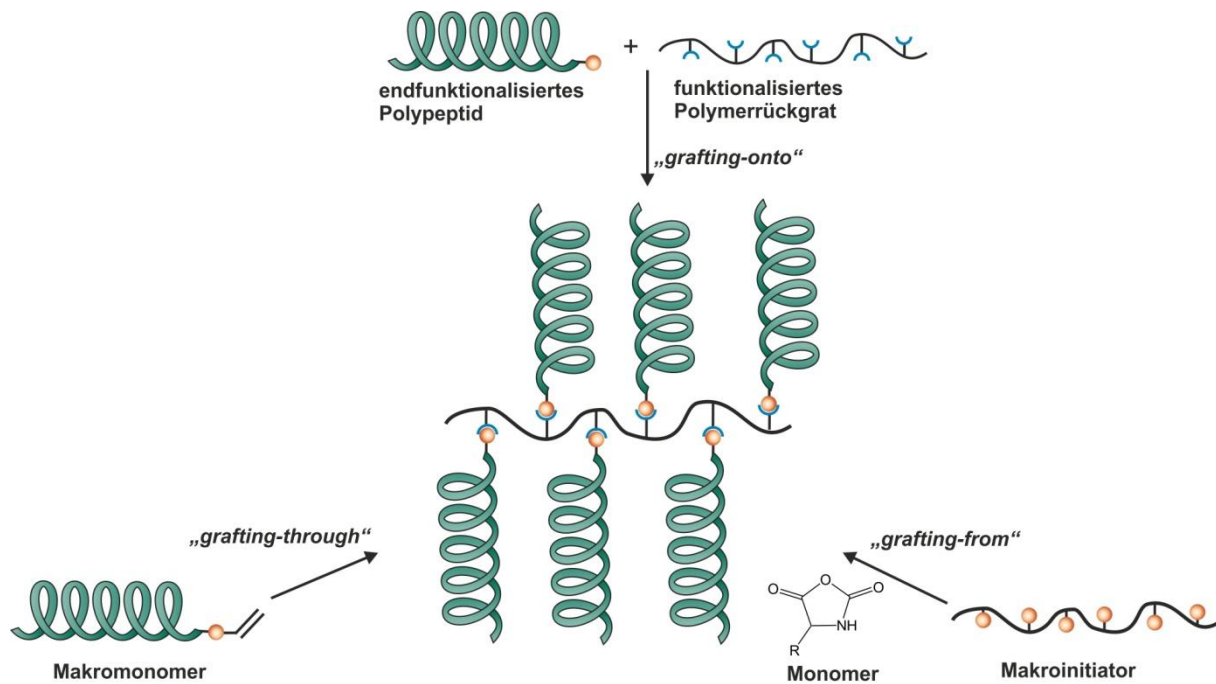


Abbildung 3.21: Schematische Darstellung der Synthese von Polypeptidbürsten.

#### a) „grafting-through“

Bei dieser Methode werden Makromonomere eingesetzt, die eine polymerisierbare Endgruppe tragen. In der Regel werden Polymerbürsten über die frei radikalische Polymerisation von vinyl-endfunktionalisierten Homomakromonomeren synthetisiert. Attraktiv an dieser Methode ist, dass jede Wiederholungseinheit des Rückgrats eine kovalent gebundene Seitenkette trägt. Da die Makromonomere getrennt hergestellt werden, können die Seitenketten vor der Polymerisation charakterisiert werden. Dies erlaubt eine Herstellung von Polymerbürsten mit wohldefinierter Pfropfdichte (immer 100 %) und Seitenkettenlänge. Jedoch können bei der „grafting-through“ Methode keine Makromonomere mit hohen Polymerisationsgraden eingesetzt werden. Aufgrund der sterischen Hinderung und der geringen Konzentration der polymerisierbaren Endgruppen sind die Polymerisationsreaktionen sehr langsam und führen häufig zu geringen Umsätzen. Die unreaktierten Makromonomere müssen anschließend durch Fraktionierung oder Dialyse wieder abgetrennt werden. Polypeptidhaltige Makromonomere mit einer Vinylendfunktion können auch für die Herstellung von Copolymeren eingesetzt werden. Zum Beispiel wurde in einem früheren Bericht das *m*, *p*-Vinylbenzylamin als Initiator für die Oligomerisierung von NCA eingesetzt. Die Makromonomere wurden anschließend mit MMA und Styrol in verschiedenen Zusammensetzungen copolymerisiert.<sup>[146]</sup> Die Gruppe von CHEN et al. stellte in einem jüngeren Bericht die Copolymerisation von *N*-isopropylacrylamid (NIPAm) als Comonomer



mit vinyl-endfunktionalisierten PZLL Makromonomeren vor, allerdings konnten keine Copolymere mit einem  $P_n$  über 40 hergestellt werden.<sup>[147]</sup> In einer anderen Arbeit dieser Gruppe wurden mit der „grafting-through“ Methode Poly(glycidylmethacrylat)-g-PZLL Copolymere erfolgreich hergestellt.<sup>[72]</sup> Für eine erfolgreiche Umsetzung zu Pfropfcopolymeren konnten nur Makromonomere mit kleinen Polymerisationsgraden von 5 bis 30 verwendet werden. Insgesamt zeigen die Ergebnisse der „grafting-through“ Methode, dass die Polymerisation von Makromonomeren bisher auf kleine Polymerisationsgrade begrenzt ist.

#### **b) „grafting-from“**

Bei dieser synthetischen Strategie wird zunächst das Polymerrückgrat (Makroinitiator) mit einer genau definierten Anzahl an Initiatorseiten, die im weiteren Verlauf das Wachstum der Seitenketten starten, hergestellt. Somit bestimmt die Anzahl der aktiven Gruppen die Anzahl der Seitenketten. Hierbei ist zu beachten, eine niedrige Konzentration an Monomer einzusetzen, um mögliche Abbruchreaktionen zu vermeiden. Diese Bedingung ist wichtig, da intramolekulare Abbruchreaktionen zu Makrozyklen führen können und noch viel entscheidender ist, dass intermolekulare Kupplungsreaktionen eine Vernetzung und makroskopische Gelierung zur Folge haben können. Die „grafting-from“ Methode erlaubt die Herstellung von langen Polymerrückgraten mit einer hohen Pfropfdichte und engen Molekulargewichtsverteilungen. Jedoch ist hier der Grad der Kontrolle über die Seitenkettenlänge und Pfropfdichte eher gering. Beide Parameter hängen vielmehr von der Initiierungsgeschwindigkeit ab. Auch gestaltet sich eine vollständige Charakterisierung der Polymerbürste als große Herausforderung. Die Anwendung der „grafting-from“ Methode wird in der Literatur für die Darstellung von Polypeptidbürsten am häufigsten beschrieben. Dabei wird zunächst ein Polymerrückgrat mit primären Amingruppen synthetisiert, welche dann zur Initiierung der Polymerisation von NCA zu Polypeptidbürsten dienen.<sup>[71-74]</sup> SCHMIDT und ZHANG<sup>[148]</sup> konnten zylindrische Polypeptidbürsten über die Kombination einer frei radikalischen Polymerisation des geschützten Methacryloyl-1,3-diaminopropans mit anschließender ROP von BLG-NCA oder ZLL-NCA erfolgreich über die „grafting-from“ Methode herstellen. Die wurmförmige Konformation, die charakteristisch für zylindrische Polypeptidbürsten ist, konnte mittels AFM nachgewiesen werden. In einem anderen Beispiel gelangen LU et al. in einer Eintopfsynthese die Darstellung von Pfropfpolypeptiden über die ROMP. Als Rückgrat wurde das Polynorbonen mit N-trimethylsilyl (N-TMS) Gruppen

synthetisiert, die eine kontrollierte Polymerisation von NCA initiieren können.<sup>[149]</sup> Mit dieser Methode wurden kontrollierte Molekulargewichte mit engen MWDs ( $PD = 1,02-1,14$ ) erhalten. Für die Synthese von molekularen Flaschenbürsten mit einem Polypeptid als starres Rückgrat und flexiblen Seitenketten wie z.B. Polystyrol (PS) oder Poly(ethylenglycolmethacrylat) (PEGMA) wurde ebenfalls die „*grafting-from*“ Methode angewandt.<sup>[150]</sup> Allerdings waren die polypeptidhaltigen Flaschenbürsten entweder mit PS-Homopolymer verunreinigt oder eine inter- und intramolekulare Kupplung des PEGMA's konnte beobachtet werden.

### c) „*grafting-onto*“

Bei der „*grafting-onto*“ Strategie werden Polymerbürsten über eine Kupplungsreaktion von endfunktionalisierten Seitenketten mit den funktionellen Gruppen des Polymerrückgrats hergestellt. Eine Besonderheit dieser Methode ist, dass sowohl Rückgrat als auch Seitenkette unabhängig voneinander über kontrollierte Polymerisationstechniken hergestellt und anschließend vor der Kupplungsreaktion charakterisiert werden können. Aufgrund der sterischen Abstoßung zwischen den Seitenketten wird häufig eine geringe Pfropfdichte beobachtet. In der Regel wird ein Überschuss an Seitenketten eingesetzt, um eine hohe Pfropfdichte zu erhalten. Im Anschluss an die Reaktion muss nicht reagiertes Polymer durch Fraktionierung oder Dialyse abgetrennt werden. Diese Strategie verfolgten z.B. ZHU et al. für die Darstellung von PBLG-*g*-PEG Pfropfpolymeren, die über eine Ester-Austauschreaktion von PBLG Homopolymer ( $M_n = 71000$  g/mol) mit PEG ( $M_n = 350$  g/mol) erhalten werden konnten.<sup>[114]</sup> Mit dieser Variante konnte allerdings nur eine Pfropfdichte von 24,4 % erreicht werden. Die Effektivität der „*grafting-onto*“ Methode hängt stark von der Größe und Länge der Seitenkette ab. Die Limitierung in der Pfropfdichte kann mithilfe der „Click-Chemie“ als Kupplungsreaktion umgangen werden. HAMMOND et al. untersuchten den Effekt der chemischen Struktur des Rückgrats auf die Pfropfdichte.<sup>[75]</sup> Als Polymerrückgrat wurde ein Poly( $\gamma$ -propargyl-L-glutamat) (PPLG) als starres Polymer mit einem Polymerisationsgrad von 40 durch die ROP von NCA synthetisiert. Mithilfe der Cu(I)-katalysierten 1,3-dipolaren Cycloaddition (CuAAC) wurden azid-funktionalisierte PEG-Seitenketten ( $M_n = 750, 1000, 2000, 5000$  g/mol) kovalent an das Rückgrat gekuppelt. Durch die bereits gegebene starre Struktur des  $\alpha$ -helicalen Rückgrats konnten hohe Pfropfdichten bis zu 98,9 % erreicht werden. Ein kompletter Umsatz der Kupplungsreaktion wurde bereits nach 35 min erzielt und zeigt im Gegensatz zu den beiden anderen Synthesestrategien, dass die „Click-Chemie“ schnell und effektiv ist. Mit dieser Methode konnten auch große Moleküle wie verschiedene

Zuckerderivate für die Synthese von wohldefinierten Glycopolypeptiden an das PPLG erfolgreich gekoppelt werden.<sup>[151]</sup> In einer weiteren Arbeit wurde die „*grafting-onto*“ Strategie via der hocheffektiven „Click-Chemie“ für die Herstellung von Kern-Schale Flaschenbürsten mit PPLG als Rückgrat eingesetzt.<sup>[76]</sup> Zudem beschrieben ZHANG und TANG eine allgemeine Synthesestrategie für die Herstellung von funktionalisierten Polypeptidseitenketten basierend auf Poly( $\gamma$ -chloropropyl-L-glutamat) (PCPLG).<sup>[152]</sup> Durch einfache Substitutionsreaktionen können z.B. Azidgruppen für die nachfolgende „Click-Chemie“ mit funktionalisierten Seitenketten an das helicale Rückgrat modifiziert werden.

Jede Methode hat ihre eigenen Vor- und Nachteile, die „*grafting-onto*“ Methode scheint dabei der vielversprechendste Ansatz zu sein. Da hier die Möglichkeit besteht, die Seitenketten und das Rückgrat vor der Kupplungsreaktion direkt charakterisieren zu können, liegt der große Vorteil in der Verwendung von einfachen Analysemethoden wie z.B. GPC zur Charakterisierung der Polypeptidbürsten. Außerdem können durch den Erfolg der „Click-Chemie“ hohe Pfropfdichten erhalten werden. Aus diesen genannten Gründen wird die „*grafting-onto*“ Strategie für die Synthese von Polypeptidbürsten in der vorliegenden Arbeit verwendet.

### 3.3.3 Herstellung von polypeptidhaltigen Stäbchen-Knäuel Blockcopolymeren

Polypeptidhaltige Stäbchen-Knäuel Blockcopolymere können über verschiedene Synthesewege erfolgreich hergestellt werden. Im Wesentlichen gibt es drei Kategorien, die im Laufe der Zeit noch weiter entwickelt und modifiziert wurden. Die bekannten Synthesestrategien sind a) Verwendung von amin-endfunktionalisierten Makroinitiatoren<sup>[61, 121, 153, 154]</sup> oder Makroinitiatoren mit Nickel-Komplexen als Endfunktion für die ROP von NCA<sup>[155-159]</sup> b) Verwendung von Kupplungsreaktionen wie z.B. die „Click-Chemie“ mit Azid oder Alkin-funktionalisiertem Polypeptid und einem entsprechend funktionalisierten Knäuel-Block<sup>[63, 64, 117, 160, 161]</sup> und c) Einsatz von bifunktionellen Initiatoren für die Kombination aus kontrolliert radikalischer Polymerisation und ROP von NCA<sup>[31, 65-67, 162]</sup> (s. Abbildung 3.22). Im Folgenden sollen die Synthesewege kurz erläutert und gegenübergestellt werden.

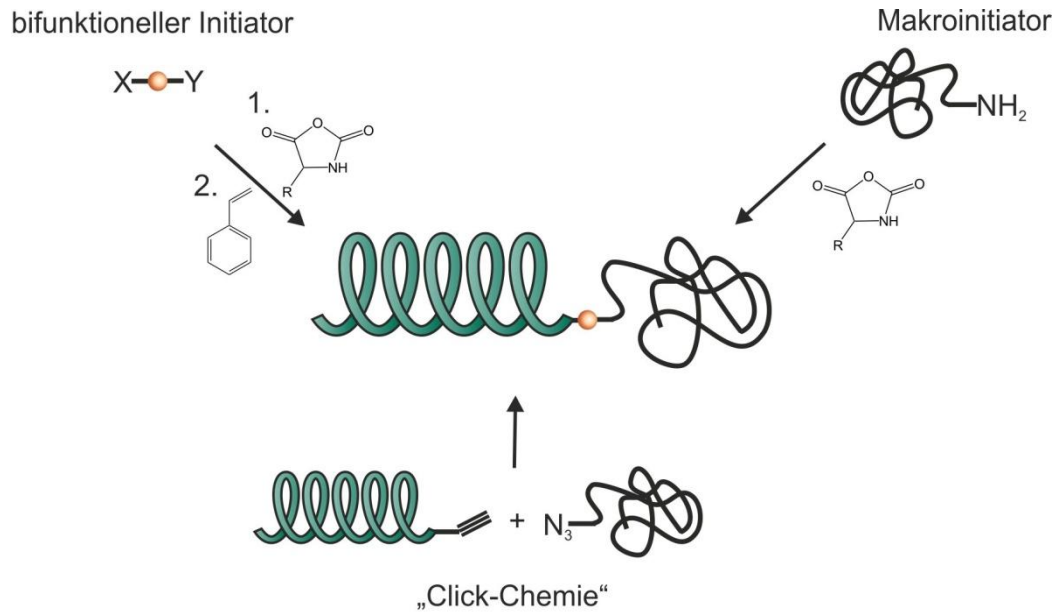


Abbildung 3.22: Schema der Synthese von polypeptidhaltigen Stäbchen-Knäuel Blockcopolymeren unter Verwendung eines bifunktionalen Initiators, eines Amin-terminierten Makroinitiators oder der Kupplungsreaktion am Beispiel der „Click-Chemie“.

#### a) Verwendung eines endfunktionalisierten Makroinitiators

Die am häufigsten angewandte Methode zur Herstellung von Stäbchen-Knäuel Blockcopolymeren ist die ROP von NCA durch amin-endfunktionalisierte Polymere. Typische Beispiele für das Knäuselsegment sind Polystyrol (PS),<sup>[53, 61, 62, 163]</sup> Polybutadien (PB),<sup>[61, 98]</sup> Polyisopren (PI)<sup>[164]</sup> und Poly( $\epsilon$ -caprolacton) (PCL)<sup>[165]</sup> oder wasserlösliche Polymere wie PNIPAM. Die Makroinitiatoren werden häufig durch eine anionische oder kontrolliert radikalische Polymerisationstechnik synthetisiert. Anschließend erfolgt eine Modifikation am Polymerkettenende mit einer Aminogruppe durch eine polymeranaloge Reaktion. Hierbei kann es zu einer unvollständigen Funktionalisierung des Makroinitiators kommen, was zu Verunreinigungen durch unfunktionalisiertes Homopolymer im Blockcopolymer führt.<sup>[60, 166]</sup> Daher muss sichergestellt werden, dass nicht funktionalisiertes Polymer wieder quantitativ abgetrennt werden kann. Inzwischen konnten Blockcopolymere mit unterschiedlichen Architekturen mit dieser Methode hergestellt werden. Für die Synthese z.B. von linearen Blockcopolymeren setzten RAO et al. das PNIPAM als amin-terminierten Makroinitiator für die ROP von NCA ein.<sup>[118]</sup> Die Arbeitsgruppe LECOMMANDOUX<sup>[84]</sup> stellte amphiphile Blockcopolymere des linearen AB Typs und des Mikroarm AB<sub>2</sub> Sterntyps bestehend aus den Polymeren PLGA und PS als Makroinitiator her. Auch dendritische Blockcopolymere aus Poly( $\epsilon$ -caprolacton) (PCL) und PBLG konnten hergestellt werden.<sup>[165, 167]</sup> Noch komplexere makromolekulare Multikomponentensysteme (auch *Chimeras* genannt)

aus Polypeptidhybriden, die linear oder als Miktoarmstern aufgebaut sind, wurden mit amin-endfunktionalisierten Polymeren durch die HVT von der Gruppe HADJICHRISTIDIS synthetisiert.<sup>[163]</sup> ZHANG et al. beschreiben eine ähnliche Strategie zur amin-terminierten Methode, bei der thiol-endfunktionalisierte Makroinitiatoren für die ROP von NCA eingesetzt wurden. Über eine zweistufige Synthese wurden peptidhaltige Blockcopolymere mit Poly(N,N-Diethylacrylamid) (DEAm) als Knäuel-Block hergestellt.<sup>[93]</sup> Die resultierenden Blockcopolymere waren aber teilweise durch Homopolymer verunreinigt, was auf eine unkontrollierte Polymerisation hindeutet.

Um die bereits erwähnten Nebenreaktionen der amin-initiierten Variante zu umgehen, haben DEMING et al. Makroinitiatoren auf Basis von Ni-Katalysatoren entwickelt und erfolgreich für die Synthese von linearen Tri- und Pentablockcopolymeren eingesetzt.<sup>[155, 156]</sup> Ebenso konnten sternförmige PS-*b*-PBLG Stäbchen-Knäuel Blockcopolymere<sup>[159]</sup> von der Arbeitsgruppe KIM auf diesem Weg hergestellt werden. Die Metall-vermittelte Methode erlaubt eine kontrollierte Darstellung von Stäbchen-Knäuel Blockcopolymeren mit unterschiedlichen Architekturen ohne Auftreten von Homopolymer als Verunreinigung im Blockcopolymer. Allerdings ist diese Methode durch viele polymeranaloge Reaktionen sehr aufwändig.

### **b) Kupplungsstrategie**

Mit diesem Ansatz werden die Polymere unabhängig voneinander hergestellt und durch entsprechende Endfunktionen miteinander verknüpft. Besonders die „Click-Chemie“ wird als Kupplungsreaktion von Azid- bzw. Alkin-funktionalisierten Polymeren verwendet, da sie eine große Toleranz gegenüber vielen funktionellen Gruppen zeigt und die Reaktion unter milden Bedingungen in nahezu quantitativer Ausbeute abläuft. LECOMMANDOUX und Mitarbeiter berichteten über die Synthese von wohldefinierten Blockcopolymeren aus Poly(2-(dimethylamino)ethylmethacrylat) (PDMAEMA) und PBLG mit jeweils einer Alkin- bzw. Azid-Endgruppe.<sup>[63]</sup> Allerdings muss beachtet werden, dass bei „Click“-Reaktionen häufig ein Überschuss an Homopolymer eingesetzt wird, welches am Ende der Reaktion vom Blockcopolymer wieder entfernt werden muss. In diesem Fall wurde der Überschuss an nicht gekoppeltem PDMAEMA durch Filtration mit Alox entfernt. In der Arbeitsgruppe LI et al. wurden die PNIPAM-*b*-(PZLL)<sub>2</sub> Blockcopolymere via „Click-Chemie“ durch anschließende Reaktion mit azid-funktionalisiertem MERRIFIELD-Harz vom Überschuss an Alkynyl-PZLL befreit.<sup>[116]</sup> RAO et al. verwendeten für die Abtrennung des azid-endfunktionalisierten PBLG

Homopolymers ein Alkynyl-funktionalisiertes WANG-Harz und erhielten so wohldefinierte polypeptidhaltige AB<sub>2</sub> (Miktoarmstern) Copolymere.<sup>[117]</sup> Ein großer Vorteil der „Click-Chemie“ gegenüber der makroinitiierten Variante liegt in der einfacheren Analytik der synthetisierten Homopolymere, die meist mittels kontrollierte Polymerisationstechniken hergestellt und anschließend miteinander verknüpft werden. Nachteilig sind allerdings die polymeranalogen Reaktionen und die benötigten Reinigungsschritte zum Abtrennen von Homopolymer.

### c) *Einsatz von bifunktionellen Initiatoren*

Eine vielversprechende Methode für die Herstellung von peptidhaltigen Stäbchen-Knäuel Blockcopolymeren ist die Verwendung eines bifunktionellen Initiators. Das Potenzial eines bifunktionellen Initiators liegt in den beiden gleichzeitig vorhandenen funktionellen Gruppen, die unabhängig voneinander für unterschiedliche Polymerisationstechniken (NCA oder CRP) eingesetzt werden können.<sup>[168]</sup> Bekannt ist diese Prozedur aus den Arbeiten der Gruppen MENZEL und HEISE<sup>[31, 65-67]</sup>, die erfolgreich die Methode eines bifunktionellen Initiators einsetzten. Das Initiatorsystem beinhaltet einerseits eine Funktionalität für die Nickel-vermittelte NCA Polymerisation zur Darstellung des Stäbchen-Blocks und andererseits eine zweite funktionelle Gruppe für die kontrolliert radikalische Polymerisation von vinylhaltigen Monomeren via NMP oder ATRP für die Darstellung des Knäuel-Blocks. HEISE et al. entwickelten dagegen bifunktionelle Initiatoren, welche eine Funktion für die amin-initiierte NCA Polymerisation beinhalten.<sup>[31]</sup>

Durch den Einsatz von bifunktionellen Initiatoren werden bei der Synthese polymeranaloge Reaktionen vermieden, die das Auftreten von Verunreinigungen durch Homopolymer im Blockcopolymer verursachen können. Die Nickel-vermittelte Methode bietet im Vergleich zu der amin-initiierten Methode den Vorteil wohldefinierte Polypeptide als Makroinitiatoren in einem großen Bereich von Molekulargewichten (500 – 500 000 g/mol) herzustellen.

#### **3.3.3.1 NMP als kontrolliert radikalische Methode zur Herstellung des Knäuel-Blocks**

Die Nitroxid vermittelte radikalische Polymerisation (NMP = *nitroxide-mediated radical polymerization*)<sup>[169]</sup> ist eine kontrolliert radikalische Polymerisationstechnik (CRP) mit der sich definierte Polymere mit gewünschten Architekturen und Funktionalitäten synthetisieren lassen. Mit dieser Polymerisationsmethode können viele funktionalisierte vinylische

Monomere polymerisiert werden. Die wichtigsten Kriterien einer kontrolliert radikalischen Polymerisation sind die lineare Zunahme des Molekulargewichtes  $M_n$  mit steigendem Umsatz, eine Reaktionskinetik erster Ordnung, über das Verhältnis des Monomers zu Initiator einstellbares Molekulargewicht und die im Laufe der Polymerisation kleiner werdende Polydispersität ( $1,0 < PD < 1,5$ ). Die kontrolliert radikalische Polymerisationsmethode NMP basiert auf der schnellen Einstellung eines dynamischen Gleichgewichtes zwischen wachsenden Polymerradikalen und der schlafenden Spezies (s. Abbildung 3.23). Da sich das Gleichgewicht mehr auf der Seite der schlafenden Spezies befindet, wird die Konzentration der reaktiven Kettenenden extrem niedrig gehalten und dadurch die irreversiblen Kettenabbrüche wie Disproportionierung und Kombination minimiert. So kann ein hoher Grad der Kontrolle über den gesamten Polymerisationsprozess gewährleistet werden.<sup>[169, 170]</sup>

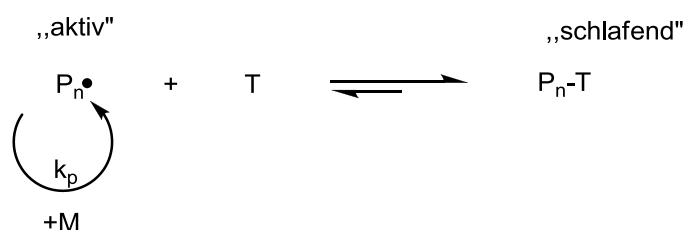


Abbildung 3.23: Gleichgewicht zwischen der „aktiven“ und der „schlafenden“ Spezies im Fall der NMP.

### 3.3.3.2 Nitroxide und Alkoxyamine in der NMP

Erstmals setzte RIZZARDO das Nitroxid TEMPO **1** (2, 2, 6, 6-Tetramethylpiperidinyloxid) in der kontrollierten Polymerisation von Styrol und styrolähnlichen Monomeren ein.<sup>[171]</sup> Mit TEMPO wird eine gute Kontrolle in der NMP von Styrol als Monomer erreicht, hingegen nicht mit Acrylaten, Acrylamiden und Dienen. Um die Anwendbarkeit der NMP zu erweitern, wurden neue cyclische und acyclische Nitroxide entwickelt. GRIMALDI et al.<sup>[172]</sup> entwickelten eine Nitroxid-Verbindung mit einer Phosphonsäuregruppe (z.B. DEPN<sup>A</sup> **2**) und HAWKER et al.<sup>[169, 173, 174]</sup> synthetisierten eine Reihe von acyclischen,  $\alpha$ -H-Atom-tragenden Nitroxiden wie z.B. das TIPNO<sup>B</sup> **3** und das entsprechende Alkoxyamin PhEt-TIPNO **6**. SCHMIDT-NAAKE et al. entwickelte das  $\alpha$ -H-Atom-tragende Nitroxid BIPNO<sup>C</sup> **4** und das entsprechende Alkoxyamin PhEt-BIPNO **7**, das erfolgreich als Initiator in der NMP mit *n*-Butylacrylat eingesetzt werden konnte.<sup>[175]</sup> Mit diesen neu entwickelten Nitroxiden und den

<sup>A</sup> *N*-tert-butyl-*N*-[1-diethylphosphono(2,2-dimethylpropyl)] Nitroxid

<sup>B</sup> 2,2,5-Trimethyl-4-Phenyl-3-azahexan-3-aminoxyl

<sup>C</sup> 2,2,5-Trimethyl-4-(isopropyl)-3-azahexan-3-oxyl

entsprechenden Alkoxyaminen ist es nun möglich Acrylate, Acrylamide, Diene und Acrylnitrile kontrolliert mit einstellbaren Molekulargewichten sowie engen Molekulargewichtsverteilungen ( $M_w/M_n = 1,05$ ) zu polymerisieren.<sup>[176]</sup> In der folgenden Abbildung ist eine Auswahl an Nitroxiden und den entsprechenden Alkoxyaminen dargestellt.

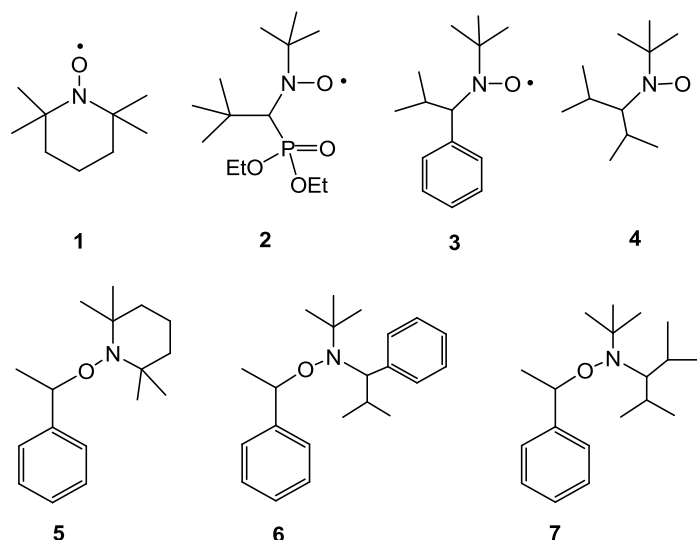


Abbildung 3.24: Nitroxide: TEMPO (1), DEPN (2), TIPNO (3), BIPNO (4) Alkoxyamine: PhEt-TEMPO (5), PhEt-TIPNO (6), PhEt-BIPNO (7).

### Mechanismus der NMP

Zu Beginn der Entwicklung der NMP wurde fast ausschließlich mit einem System aus TEMPO und Dibenzoylperoxid (BPO) nach dem bimolekularem Mechanismus gearbeitet. Dabei wird ein Alkoxyamin *in situ* gebildet, welches dann die Polymerisation startet. Bei diesem Mechanismus liegt das Gleichgewicht zwischen der terminierten „schlafenden“ Spezies und der „aktiven“ Spezies weit auf der terminierten Seite. Der Nachteil des bimolekularen Prozesses ist die ungenaue Kenntnis über die Konzentration der initiiierenden Spezies. Somit ist die Einstellung des Molekulargewichts über das Verhältnis der Monomer- zur Initiatorkonzentration nur bedingt möglich.

Pionierarbeit leisteten HAWKER et al.<sup>[173, 177]</sup>, die eine Reihe von Alkoxyaminen synthetisierten und in der kontrollierten Polymerisation von Styrol einsetzten. Durch die Entwicklung der Alkoxyamine und dem Einsatz dieser als unimolekularer Initiator konnten die Nachteile eliminiert werden, so dass eine Kontrolle über das Molekulargewicht, der Polydispersität und die Struktur der Polymere ermöglicht wurde. Alkoxyamine haben den Vorteil, dass die Stöchiometrie des initiiierenden Radikals zu dem Terminierungsreagenz



genau bekannt und damit auch besser einstellbar ist. Die C-O-Bindung des Alkoxyamins **5** ist thermisch instabil und bildet bei Erwärmung das  $\alpha$ -Methyltoluolradikal **8** und das stabile Nitroxid TEMPO in der gewünschten Stöchiometrie von 1:1. Analog dem bimolekularen Mechanismus kann das Nitroxid mit der wachsenden Polymerkette zur schlafenden Spezies reagieren und reduziert so die Radikalkonzentration (s. Abbildung 3.25).

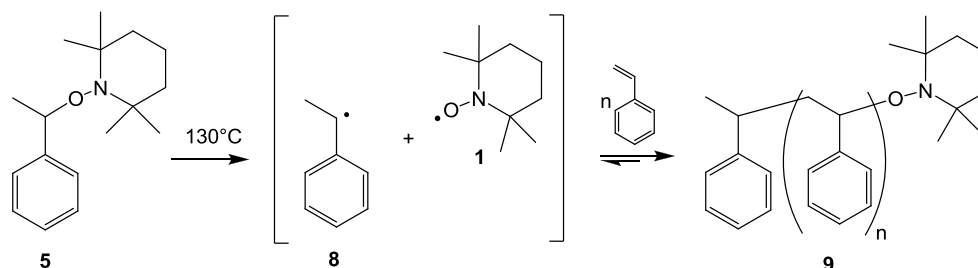


Abbildung 3.25: Unimolekularer Mechanismus der NMP.<sup>[169]</sup>

### 3.3.3.3 Synthese des Alkoxyamins

Die Alkoxyamine beinhalten eine initiiierende (Alkylradikal) und eine terminierende (Nitroxid) Einheit. Wichtig ist das Vorhandensein einer  $\alpha$ -Methylgruppe am C-Atom, an dem auch das Nitroxid gebunden ist. Ohne diese  $\alpha$ -Methylgruppe kann die Polymerisation von Styrol nicht kontrolliert ablaufen.<sup>[173, 177]</sup> Durch Einsatz von funktionalisierten Alkoxyaminen können Polymere erhalten werden, deren funktionelle Gruppe am Kettenende für weitere Reaktionen (z.B. Blockcopolymere) genutzt werden kann. In der Literatur gibt es eine Reihe von Synthesemöglichkeiten für Alkoxyamine.<sup>[178-181]</sup>

Im Folgenden wird die in dieser Arbeit angewendete Synthese von Alkoxyaminen mithilfe von Übergangsmetallen nach DAO et al. vorgestellt.<sup>[173]</sup> Es erfolgt eine Addition der Nitroxide an eine Doppelbindung olefinischer Derivate mithilfe des Jacobsen-Katalysators, einem Mangan(III)Salen-Komplex **10**. Besonders aktivierte Doppelbindungen wie im Falle von Styrol führen zu geeigneten Alkoxyaminen, die als Initiatoren für die kontrolliert radikalische Polymerisation eingesetzt werden können. Der Mechanismus für diese Reaktion wird noch kontrovers diskutiert, aber es gibt Hinweise, dass der direkte Angriff des Olefins ans Zentrum der Oxomangan-Verbindung erfolgt. Dabei wird ein radikalisches Intermediat erzeugt, das in das gewünschte Epoxid **13** zerfällt. Basierend auf diesen Voraussetzungen haben DAO et al. eine neue Strategie zur Synthese von Alkoxyaminen entwickelt, die eine generelle

Syntheseroute für eine große Auswahl an funktionalisierten Alkoxyaminen darstellt. Die Reaktion läuft bei Raumtemperatur mit relativ guten Ausbeuten (57-75 %) ab. Als Oxidationsmittel wird Di-*tert*-butylperoxid eingesetzt, um den Jacobsen-Katalysator in seine oxidierte Form umzuwandeln. BOTHE et al.<sup>[182]</sup> optimierten die Synthese, indem mit Luftsauerstoff als Oxidationsmittel gearbeitet wurde. In Abbildung 3.26 ist der Mechanismus schematisch dargestellt.

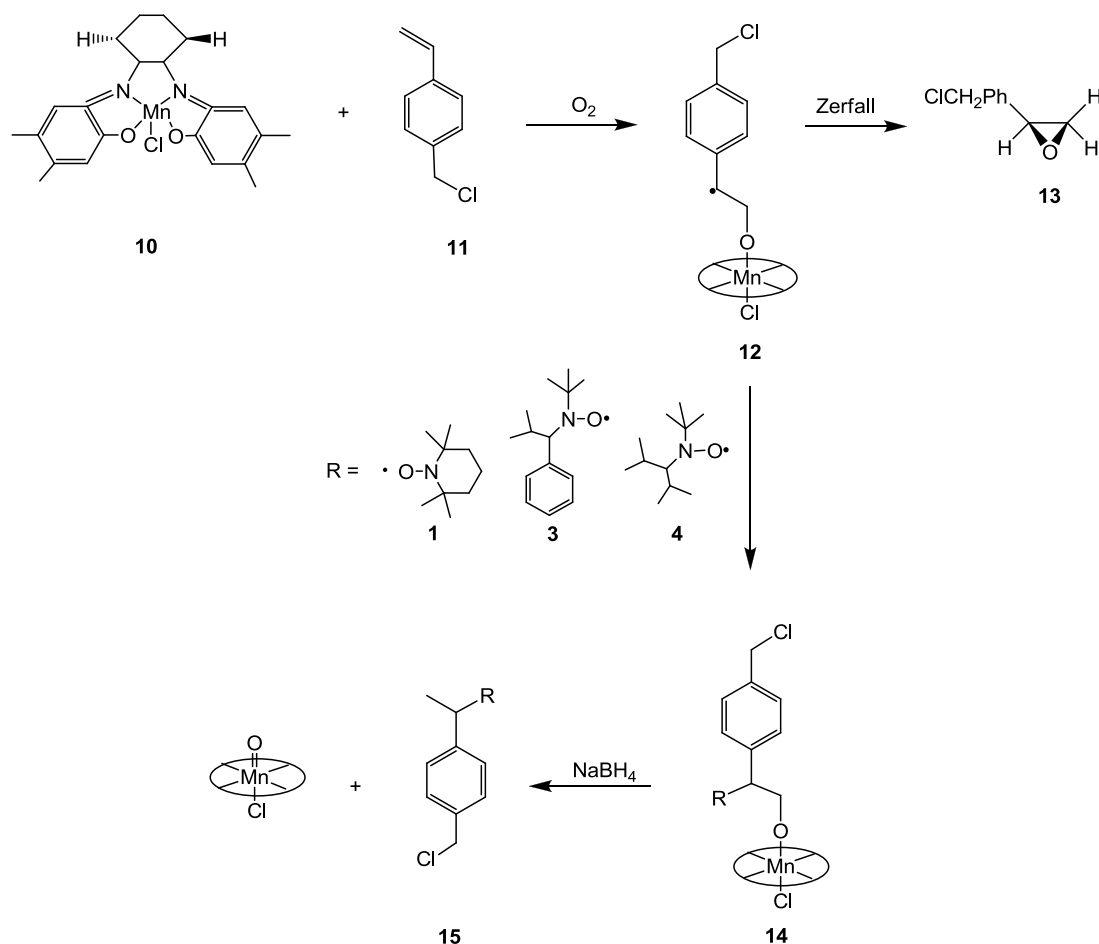


Abbildung 3.26: Postulierter Mechanismus für die Mn(III)Salen-chlorid-katalysierte Alkoxyaminsynthese nach DAO et al.<sup>[173]</sup>

Das Styrolderivat *p*-Vinylbenzylchlorid **11** erzeugt mit dem gebildeten Manganoxokomplex ein radikalisches Intermediat **12**. Dieses Intermediat wird mit einem Nitroxid **1**, **3** oder **4** direkt abgefangen und bildet als Kupplungsprodukt einen Alkoxyamin-Manganoxo-Komplex **14**. Nachfolgende Reduktion mit NaBH<sub>4</sub> zerstört den Komplex und führt zum gewünschten Alkoxyamin **15**. Im Vergleich zu anderen Synthesewegen von Alkoxyaminen bietet die Mn(III)-basierte Strategie hohe Ausbeuten unter sehr milden Bedingungen. Zusätzlich ist die Synthese von vielen verschiedenen funktionalisierten Alkoxyaminen möglich.<sup>[173]</sup>

### 3.4 Charakterisierungsmethoden

#### 3.4.1 Circulardichroismus (CD)

Die Circulardichroismus (CD)-Spektroskopie ist eine wichtige Methode zur Untersuchung der Sekundärstruktur von Biopolymeren wie Polypeptiden, DNA oder Proteinen. Die CD-Spektroskopie ist wie die optische Rotationsdispersion (ORD) eine optische Messmethode, bei der die Wechselwirkung von linear polarisiertem Licht mit optisch aktiven (chiralen) Molekülen genutzt wird.<sup>[183, 184]</sup> Wird das linear polarisierte Licht beim Durchlaufen des Mediums wellenlängenabhängig in seiner Polarisationsrichtung gedreht, wird von einer optischen Rotationsdispersion gesprochen. Werden die beiden Komponenten ( $E_L$  und  $E_R$ ) des linear polarisierten Lichts zusätzlich verschieden stark absorbiert, so liegt Circulardichroismus vor. Das in das Medium eintretende linear polarisierte Licht wird als Überlagerung von zwei circular polarisierten Anteilen mit den  $\vec{E}$ -Feldvektoren  $\vec{E}_L$  und  $\vec{E}_R$  aufgefasst. Sind die Amplituden der beiden Anteile nach dem Austreten aus dem Medium unterschiedlich, so entsteht elliptisch polarisiertes Licht. Der Vektor beschreibt nun nicht mehr länger eine Linie, sondern eine Ellipse (Abbildung 3.27). Chirale Moleküle absorbieren die beiden circular polarisierten Komponenten mit unterschiedlichen Extinktionskoeffizienten  $\varepsilon_L \neq \varepsilon_R$ . Die eigentliche Messgröße in der CD-Spektrometrie ist die Absorptionsdifferenz  $\Delta A = A_L - A_R$ , die positive wie auch negative Werte annehmen kann.

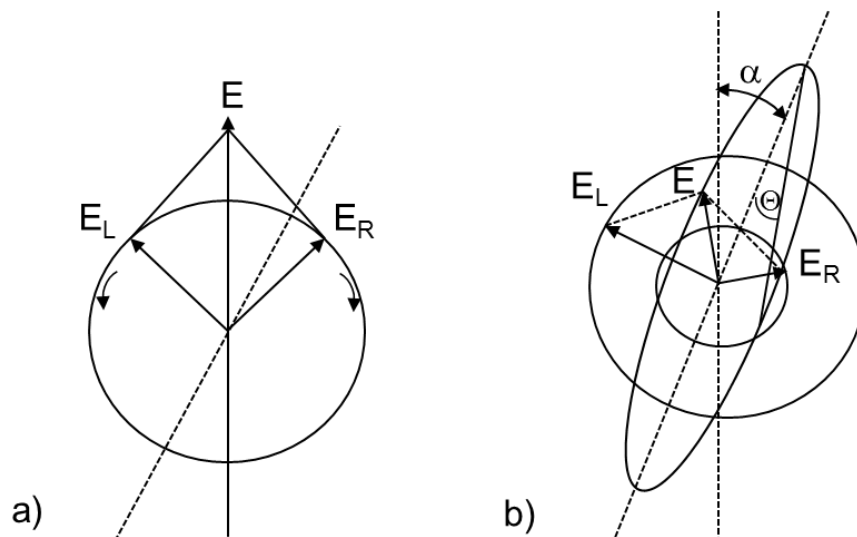


Abbildung 3.27: Vektor- und Winkelbeziehungen beim Durchgang linear polarisierten Lichtes durch ein optisch aktives Medium bei der CD-Spektroskopie. a) zeigt die reine optische Rotation, b) illustriert zusätzlich die entsprechende Elliptizität als Folge unterschiedlicher Absorption beider kreispolarisierter Komponenten.<sup>[184]</sup>

Für die CD-Spektroskopie wird die Elliptizität mathematisch wie folgt beschrieben:

$$\Theta_{\lambda} = konst \cdot \Delta A \text{ (Grad )} \quad (3.1)$$

Der konstante Vorfaktor  $konst = \ln 10 \cdot 180 / 4\pi$  hat den Betrag von etwa 33. Für CD-Spektren wird üblicherweise die molare Elliptizität mit der Molekülmasse  $M_r$ , der Konzentration  $c$  und der Schichtdicke der Küvette  $d$  verwendet:

$$[\Theta]_{\lambda} = \frac{M_r \cdot \Theta_{\lambda}}{10 \cdot d \cdot c} \left( \frac{\text{Grad} \cdot \text{cm}^2}{\text{mol}} \right) \quad (3.2)$$

Durch Auftragung der molaren Elliptizität gegen die Wellenlänge ergibt sich im UV- bzw. im VIS-Bereich das CD-Spektrum. Im Bereich der Absorptionsbande kommt es zu den sogenannten positiven oder negativen Cotton-Effekten. Dieses Phänomen entsteht durch die Änderung des Wertes der optischen Drehung mit der Wellenlänge („anomale“ ORD-Kurven).

Bei Polypeptiden wird die optische Aktivität durch das  $\alpha$ -C-Atom der Amidgruppe des Rückgrats hervorgerufen. Die Ausbildung der Sekundärstrukturen wie  $\alpha$ -Helix,  $\beta$ -Faltblatt oder Zufallsknäuel führt zu charakteristischen CD-Spektren (s. Abbildung 3.28). Im UV-Bereich von 190-250 nm können Aussagen über die Sekundärstrukturen getroffen werden: Für die  $\alpha$ -Helix resultiert ein elektronischer  $n$ - $\pi^*$ -Übergang bei 222 nm (negatives  $\Delta A$ ) und ein  $\pi$ - $\pi^*$ -Übergang bei 208 nm (negatives  $\Delta A$ ) und 192 nm (positives  $\Delta A$ ), der durch die Aufspaltung von Excitonen entsteht. Das  $\beta$ -Faltblatt hingegen zeigt einen  $n$ - $\pi^*$ -Übergang mit einer negativen Bande bei 215 nm und einer positiven Bande bei 195 nm. Für das Zufallsknäuel wird eine negative Bande bei etwa 195 nm ( $\pi$ - $\pi^*$ -Übergang) und eine positive Bande bei 212 nm ( $n$ - $\pi^*$ -Übergang) beobachtet. In Proteinen liegen jedoch häufig mehrere Sekundärstrukturen gleichzeitig vor, so dass das erhaltene CD-Spektrum sich aus einer Überlagerung der einzelnen Strukturen ergibt. Für die molare Elliptizität ergibt sich folgende Gleichung:

$$[\Theta] = f_{\alpha} \cdot [\Theta_{\alpha}] + f_{\beta} \cdot [\Theta_{\beta}] + f_{rc} \cdot [\Theta_{rc}] \quad \text{mit } f_{\alpha} + f_{\beta} + f_{rc} = 1 \quad (3.3)$$

$[\Theta_{\alpha}]$ : Elliptizitäten der  $\alpha$ -helicalen Strukturmerkmale

$[\Theta_{\beta}]$ : Elliptizitäten der  $\beta$ -Faltblatt Strukturmerkmale

$[\Theta_{rc}]$ : Elliptizitäten der random coil Strukturmerkmale

$f_{\alpha}, f_{\beta}, f_{rc}$ : Anteile der Sekundärstrukturmerkmale im Protein

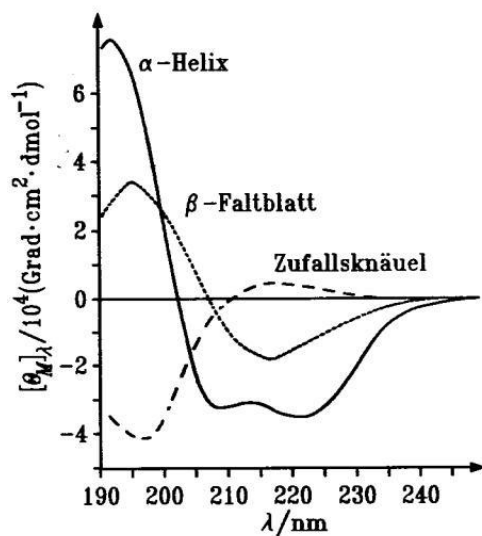


Abbildung 3.28: CD-Spektren von drei unterschiedlichen Sekundärstrukturen von Poly(L-lysin) in wässriger Lösung nach GREENFIELD und FASMAN; Grafik übernommen aus dem Lehrbuch.<sup>[185]</sup>

Nach GREENFIELD und FASMAN kann das Aussehen solcher Kurven für die verschiedenen Anteile der drei Konformationen berechnet werden.<sup>[186]</sup>

### 3.4.2 Dynamische Lichtstreuung (DLS)

Dynamische Lichtstreuung (Dynamic Light Scattering – DLS), auch bekannt als Quasi-Elastische Lichtstreuung (QELS) oder Photonen-Korrelationsspektroskopie (PCS), ist eine Methode zur Bestimmung des hydrodynamischen Radius von kolloidalen Teilchen in Lösung. Bei der DLS wird eine zeitabhängige Fluktuation der Streulichtintensität gemessen, die durch die Brown'sche Molekularbewegung verursacht wird. Je größer die Teilchen sind, desto langsamer ist ihre Brown'sche Bewegung. Hingegen bewegen sich kleinere Teilchen schneller, da diese von Lösemittelmolekülen stärker gestoßen werden. Die Geschwindigkeit der Brown'schen Bewegung wird durch den translatorischen Diffusionskoeffizienten beschrieben. Einen großen Einfluss auf die Brown'sche Bewegung haben die Viskosität und die Temperatur. Unter Verwendung der Stokes-Einstein-Gleichung kann die Partikelgröße für hochverdünnte Lösungen berechnet werden.

$$R_H = \frac{kT}{6\pi\eta D} \quad (3.5)$$

mit der Boltzmann-Konstante  $k$ , die Temperatur  $T$ , der Viskosität  $\eta$  und dem Diffusionskoeffizienten  $D$ .

Das Lichtstreuverhalten von kleinen Teilchen mit einer Partikelgröße bis zu  $d = 0,02 \mu\text{m}$ , die deutlich kleiner als die Wellenlänge des eingestrahlt Lichts ( $d < \lambda/10$ ) sind, wird mit der Rayleigh-Gleichung beschrieben. Trifft vertikal polarisiertes Laserlicht (monochromatisches Licht) auf die Probe, führt das zu Interferenzen mit kleinen Fluktuationen in der Streuintensität. Die Teilchen zeigen ein isotropes Streuverhalten mit einer gleichen Streuintensität, die in alle Raumrichtungen winkelnunabhängig ist. Im Rayleigh-Bereich ist der lineare Zusammenhang zwischen der Streuintensität und der Teilchengröße charakteristisch. Zwei wichtige Beziehungen aus der Rayleigh-Gleichung können für die DLS zur Beschreibung der Streuintensität herangezogen werden; der Zusammenhang mit der Teilchengröße  $I \propto d^6$  und mit der Wellenlänge  $I \propto 1/\lambda^4$ .

Die DLS liefert Aussagen über die Schwankungsgeschwindigkeit der Streulichtintensität, die mit einer sogenannten Autokorrelation berechnet werden kann. Die Messungen erfolgen in sehr kurzen Zeitskalen und kleinen Messbereichen, d.h. für große Teilchen resultiert eine wenig veränderte Streulichtintensität und Position als bei kleinen (s. Abbildung 3.29). Die kleinen Teilchen diffundieren dagegen schneller, dies führt zu unterschiedlichen Interferenzen zwischen den Messungen, die entweder verstärkt oder ausgelöscht werden und stärkere Schwankungen der Streulichtintensität sind die Folge.

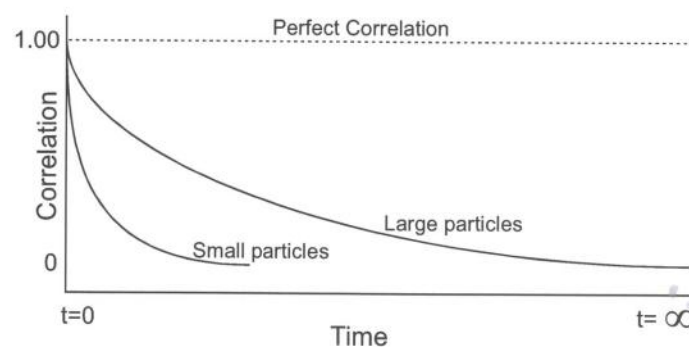


Abbildung 3.29: Grafik veranschaulicht die Korrelationsfunktion für kleine und große Partikel.<sup>[187]</sup>

Die Autokorrelationsfunktion<sup>[188]</sup> für die Messung der zeitabhängigen Lichtintensität für monodisperse Teilchen unter Annahme von starren Kugeln lautet:

$$g(\tau) = A[1 + B \exp(-2Dq^2\tau)] \quad (3.6)$$

wobei A die Baseline der Funktion, B der Achsenabschnitt und  $\tau$  der Verzögerungszeit

und der Streuvektor  $q$  als  $q = \left( \frac{4\pi n}{\lambda_0} \right) \sin \left( \frac{\theta}{2} \right)$  definiert ist.

$n$  = Brechungsindex des Dispergiermediums

$\lambda_0$  = Lichtwellenlänge des Lasers

$\theta$  = Streuwinkel

Aus der Gleichung 3.6 lässt sich der translatorische Diffusionskoeffizient direkt berechnen, wodurch nun aus Gleichung 3.5 der hydrodynamische Radius, der dem einer starren Kugel entspricht, zugänglich ist. Für polydisperse Systeme liegen die Durchmesser für die vorliegenden Teilchen um einen Mittelwert verteilt. Die Korrelationsfunktion wird nicht mehr durch eine abfallende Exponentialfunktion ausgedrückt, sondern durch eine Überlagerung vieler Exponentialfunktionen der unterschiedlichen großen Teilchen:

$$g(\tau) = A[1 + B g_1(\tau)^2] \quad (3.7)$$

wobei  $g_1(\tau)$  die Summe aller exponentiellen Abklingfunktionen der Gleichung 3.6 präsentiert.

### 3.4.3 Rasterkraftmikroskopie

Rasterkraftmikroskopie (Atomic Force Microscopy – AFM) ist eine Methode zur Abbildung der Oberflächentopographie mit atomarer Auflösung.<sup>[189]</sup> Die mikroskopische Methode ist besonders geeignet, um die zylindrische Topographie von Bürstenpolymeren abzubilden.

Das erste Rasterkraftmikroskop wurde erstmals von BINNIG et al. durch Weiterentwicklung der Rastertunnelmikroskopie 1986 entwickelt<sup>[190]</sup> und gehört zu den mikroskopischen Techniken mit der höchsten Auflösung (picometer-Bereich). Die Abbildung der Topographie wird durch die Abtastung einer Spitze über die Oberfläche der Probe erzeugt. Dabei ist das Auflösungsvermögen abhängig von Spitzenradius und –form. Mit einer feinen, schmalen Spitze werden Abbildungen mit hoher Auflösung erzeugt. Die Spitze ist an einem beweglichen Federarm, dem sogenannten Cantilever angebracht und biegt sich abhängig von den Unebenheiten der Oberflächenstruktur unterschiedlich stark. Um die Probe nicht zu zerstören, darf die Spitze nicht zu fest auf die Oberfläche drücken. Die Verbiegung der Spitze

ist ein Maß für die wirkenden atomaren Kräfte (anziehende Van-der-Waals-Kräfte, abstoßende Coulomb-Kräfte, elektrostatische Kräfte) und kann durch Reflexion eines fokussierten Lasers auf die Spitze gemessen werden. Gemessen wird die Abweichung von der Totalreflexion des Laserstrahls mit einem Photodetektor. Die resultierende Kraft  $F$  lässt sich im einfachsten Fall aus der Auslenkung am freien Ende des Cantilevers mit dem Hook'schen Gesetz beschreiben:

$$F = k \cdot z \quad (3.8)$$

wobei  $k$  die Federkonstante des Cantilevers und  $z$  die Federarmauslenkung ist.

Die resultierenden Kräfte, die bei der Wechselwirkung zwischen Spitze und Probe entstehen, sind je nach Abstand von der Oberfläche unterschiedlich. Im Zusammenhang mit dem Abstand kann die resultierende Kraft  $F$  mithilfe einer Kraft-Abstands-Kurve (s. Abbildung 3.30) dargestellt werden.

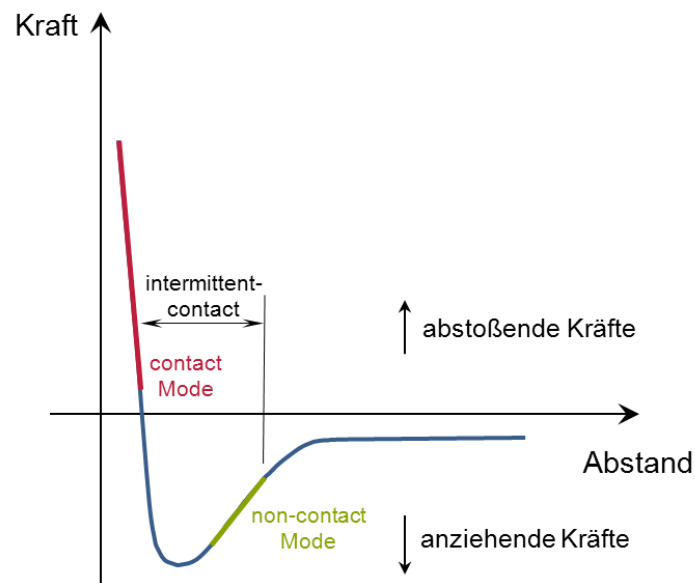


Abbildung 3.30: Kraft-Abstands-Kurve.

Für das AFM gibt es drei verschiedene Messmethoden (contact-Mode, non-contact-Mode und Tapping-Mode<sup>TM</sup>), die im Zusammenhang mit der Kraft-Abstandskurve stehen. Das Abtasten der Oberfläche kann entweder in einem statischen (contact-Mode) oder dynamischen (Tapping-Mode und non-contact) Anregungsmodus erfolgen. Die schematische Abbildung 3.31 zeigt den Verlauf der Spitze über die Probenoberfläche der beiden Betriebsmodi des AFM. In der vorliegenden Arbeit wird das AFM mit dem Betriebsmodus Tapping-Mode<sup>TM</sup> angewandt und dieser soll im Folgenden näher erläutert werden.



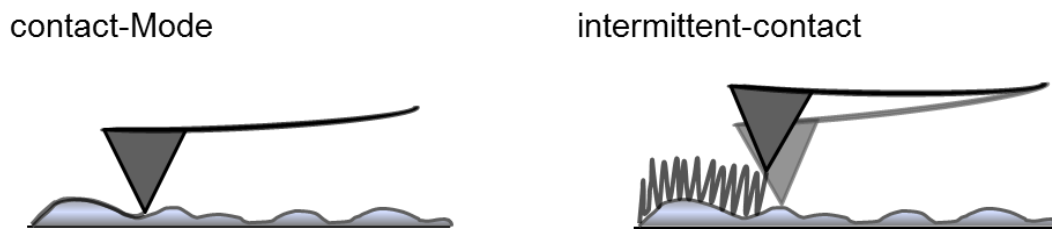


Abbildung 3.31: Schematische Präsentation zeigt die beiden Messmodi: contact-Mode als statischer Anregungsmodus arbeitet im Bereich der repulsiven Kräfte (links) und dem dynamischen Anregungsmodus Tapping-Mode<sup>TM</sup> (oder intermittent-contact) im kompletten Bereich der Kräfte (rechts).

### Tapping-Mode<sup>TM</sup>

Die dynamische Messmethodik findet allgemein bei weichen Proben (Polymere, Biomaterialien) und Materialien mit großen Höhenunterschieden Anwendung, da so die Zerstörung der Probe durch permanente Kraftausübung (contact-Mode) vermieden wird. Im Tapping-Mode<sup>TM</sup> (oder intermittent-contact) befindet man sich meistens im Bereich der attraktiven Van-der-Waals-Kräfte. Im Idealfall kann eine laterale Auflösung von 1 nm und einer Höhenauflösung von 0,01 nm erreicht werden.

Der Cantilever wird im Tapping-Mode zu einer Schwingung nahe seiner Resonanzfrequenz angeregt, so dass die Spitze mit einer sinusförmigen vertikalen Schwingung mit kurzen Berührungen über die Probe oszilliert. Dadurch werden die lateral wirkenden Kräfte reduziert, die hauptsächlich für die Deformation der Probe verantwortlich sind. Eine kontrollierte Bewegung des Cantilevers in alle drei Raumrichtungen wird durch ein piezoelektrisches Element erreicht. Laterale Abweichungen von der Position werden detektiert und durch einen konstanten Messwert der Schwingungsamplitude, die kleiner als die Anregungsamplitude des Cantilevers ist, geregelt. Es kommt zu einer Phasenverschiebung zwischen anregender Piezoschwingung und Anregungsschwingung des Cantilevers. Beim Kontakt mit der Probenoberfläche wird die Amplitude gedämpft und dadurch die Schwingung verändert. Aus der elektrischen Nachregelung der Amplitude werden Informationen für die Amplituden-dämpfung und parallel aus der Auslenkung des Cantilevers Höheninformation (Topographie) entnommen. Jeder Messpunkt entspricht dabei einer Kraft-Abstandskurve, woraus Informationen über die Materialeigenschaften (Viskosität, Elastizität, Dissipation) der Probenoberfläche gewonnen werden können. Proben mit unterschiedlichen Materialeigenschaften, wie hart und weich, zeigen einen großen Einfluss auf die Phasenbild-Messungen im Tapping-Mode. Der Zusammenhang der Wechselwirkung zwischen Spitze und Beschaffenheit der Probenoberfläche wurde von MAGONOV et al. ausführlich beschrieben.<sup>[191, 192]</sup>

## 4 Synthese von PBLG

Die Synthese von Poly( $\gamma$ -benzyl-L-glutamat) erfolgt über die ringöffnende Polymerisation (ROP) von  $\gamma$ -Benzyl-L-glutamat-*N*-Carboxyanhydrid ( $\gamma$ -BLG-NCA), welches aus der entsprechenden  $\alpha$ -Aminosäure  $\gamma$ -Benzyl-L-glutamat ( $\gamma$ -BLG) hergestellt wird. Im Allgemeinen werden NCAs durch direkte Phosgenierung aus den  $\alpha$ -Aminosäuren hergestellt (FUCHS-FARTHING-Methode)<sup>[193, 194]</sup>. In dieser Arbeit wurde die Synthesemethode des  $\gamma$ -BLG-NCA in Anlehnung an FULLER angewandt.<sup>[195]</sup> Mit dieser Methode wird anstelle gasförmigen Phosgens, eine Lösung von Phosgen eingesetzt, was die NCA Synthese durch die gute Dosierbarkeit und bessere Handhabung wesentlich erleichtert. Das kommerziell erhältliche  $\gamma$ -Benzyl-L-glutamat ( $\gamma$ -BLG) wurde durch Reaktion mit Phosgen-Lösung (20 %ig gelöst in Toluol) in THF zum entsprechenden NCA umgesetzt (Abbildung 4.1.). Ein weißer, kristalliner Feststoff konnte durch Auskristallisieren aus Petrolether in Ausbeuten von bis zu 90 % in reiner Form erhalten werden. Entscheidend bei der NCA Synthese ist das Verhältnis von THF zu Petrolether von 1:2 (v/v). Bei Abweichungen von diesem Verhältnis konnten zusätzlich Nebenprodukte des BLG-NCAs beobachtet werden, die sichtbar als gelber Feststoff auskristallisierten, so dass das NCA nicht mehr verwendet werden konnte. Das kristalline Produkt wurde anschließend aufgrund der Empfindlichkeit gegenüber Luftfeuchtigkeit unter Vakuum bei -30 °C gelagert. NCAs weisen zudem nur eine geringe Lagerbeständigkeit auf, daher wurde das  $\gamma$ -BLG-NCA möglichst kurz vor der NCA Polymerisation hergestellt.

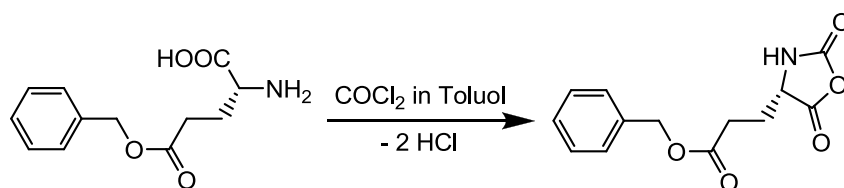


Abbildung 4.1: Synthese des  $\gamma$ -BLG-NCA in Anlehnung an FULLER<sup>[195]</sup>.

Für die Herstellung wohldefinierter makromolekularer Strukturen stellt ein hoher Funktionalisierungsgrad die Grundvoraussetzung dar. Daher ist es entscheidend, kontrollierte Polymerisationstechniken anzuwenden. Damit ein Polymerisationsmechanismus kontrolliert verläuft, müssen einige Voraussetzungen, wie das Vorhandensein der aktiven Gruppe am Polymerkettenende und ein gleichzeitiges Wachstum der Polymerketten erfüllt sein.<sup>[196]</sup> Das Molekulargewicht lässt sich dann über das Monomer-zu-Initiator Verhältnis gezielt einstellen,

und es kann eine enge Molekulargewichtsverteilung realisiert werden. Als Maß dafür dient die Polydispersität, die für kontrollierte Polymerisationen kleiner als 1,5 sein sollte.<sup>[197]</sup>

Die Synthese von PBLG erfolgt über die kontrollierte ROP von NCA (Vgl. Kapitel 3.1).<sup>[87]</sup> In dieser Arbeit wurden zwei der bekannten Synthesestrategien, die Nickel-katalysierte Methode nach DEMING und die amin-initiierte Variante zur Herstellung von PBLG eingesetzt. Ziel war es, wohldefinierte PBLGs in einem breiten Molekulargewichtsbereich herzustellen. Mit der ersten Methode sind PBLGs mit hohen Molekulargewichten ( $M_n > 15000$  g/mol) zugänglich, die zweite ist eine vielversprechende Methode für die Darstellung kleiner PBLGs ( $M_n < 15000$  g/mol). Des Weiteren kann mithilfe der beiden Mechanismen eine definierte Endfunktion ans Kettenende des PBLG eingeführt werden. Im Anschluss der Polymerisation dienen die endfunktionalisierten PBLGs als stäbchenförmige Bausteine für die Synthese makromolekularer Strukturen mit unterschiedlichen Architekturen. Im Folgenden werden die Ergebnisse der beiden verwendeten NCA Polymerisationen zur Darstellung endfunktionalisierter PBLGs vorgestellt und im Anschluss miteinander verglichen.

#### 4.1 Synthese des Nickel-Initiators für die NCA Polymerisation

Die Nickel-initiierte NCA Polymerisation ist eine Möglichkeit zur Herstellung von hochmolekularen Polypeptiden. Nach diesem Mechanismus werden Neben- und Abbruchreaktionen vermieden und es können wohldefinierte Polypeptide mit engen Molekulargewichtsverteilungen erhalten werden.<sup>[36, 40]</sup> Als Initiator wird bei dieser Polymerisationsmethode ein Nickel-Amido-Amidat-Komplex eingesetzt.<sup>[95]</sup> Zudem konnten DEMING und Mitarbeiter in einer weiteren Arbeit zeigen, dass sich ein aktiver Nickel-Initiator mit einer funktionellen Endgruppe isolieren lässt.<sup>[39]</sup> Im Anschluss der Polymerisation findet sich diese funktionelle Endgruppe quantitativ am Polypeptid wieder und eröffnet den Zugang zu Polypeptidmaterialien mit neuartigen Strukturen. Die funktionellen Endgruppen (R) werden mit dieser Methode über  $N_\alpha$ -Alloc-Aminosäurederivate eingeführt, die im nächsten Schritt mit Nickel(0)-Komplexen zu den aktiven Nickel-Initiatoren umgesetzt werden. In der vorliegenden Arbeit wurde eine Reihe von Alloc geschützten Aminen mit funktionellen Endgruppen synthetisiert. Die dafür verwendeten primären Amine sind in der Abbildung 4.2 dargestellt. Einerseits sollte eine Propargyl- oder Azidgruppe über die Amine **16** und **17** eingeführt werden, um beispielsweise die Darstellung von sternförmigen Polypeptiden über

die „Click-Chemie“ (s. Kapitel 5) zu ermöglichen. Des Weiteren wurde auch eine vinylische Endfunktion im 4-Vinylbenzylamin (VBA) **18** zum Alloc geschützten Amin umgesetzt. Diese Endfunktion erlaubt den Zugang zu Pfropfcopolymeren über eine frei radikalische Polymerisation.<sup>[134, 146]</sup> Durch die Verwendung des sterisch weniger anspruchsvollen Amins **19** soll der Einfluss der sterischen Hinderung der verwendeten funktionalisierten Amine bei der Synthese des Nickel-Katalysators untersucht werden. Zusätzlich wurde für die Darstellung eines Knäuel-Blocks mit den Nitroxiden **20** – **22** TEMPO, TIPNO oder BIPNO eine Alkoxyaminygruppe für die kontrolliert radikalische Polymerisation (s. Kapitel 6) eingeführt. Die primären Amine **16**, **18** und **19** waren kommerziell erhältlich. Die Synthese der verwendeten Amine **17** und **20** - **22** werden in den entsprechenden Kapiteln detailliert vorgestellt.

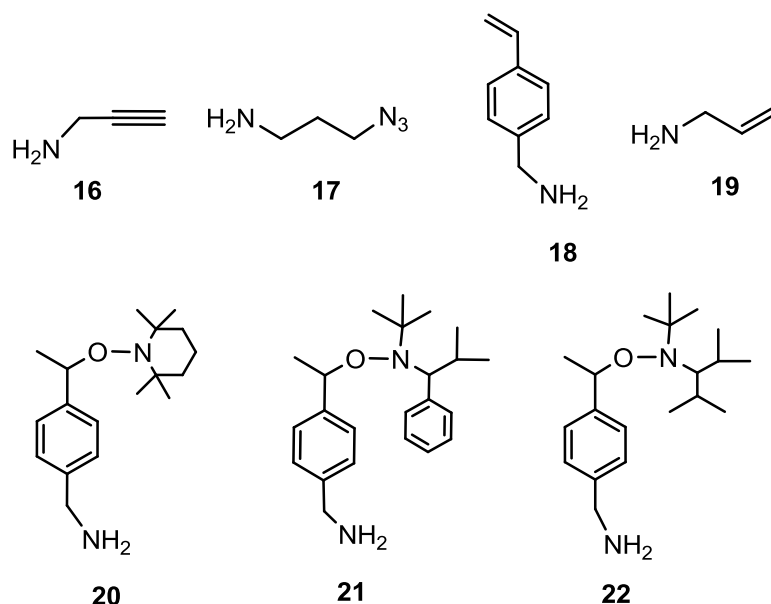


Abbildung 4.2: Verwendete funktionalisierte Amine: Propargylamin **16**, 1-Azido-3-aminopropan **17**, 4-Vinylbenzylamin **18**, Allylamin **19** sowie die Alkoxyamine mit TEMPO **20**, TIPNO **21** und BIPNO **22** Funktion.

Für die Synthese des Nickel-Initiators **26** wird zunächst ein N<sub>α</sub>-Alloc-Aminosäurederivat **25** benötigt. Als Ausgangsprodukt für die Synthese des Initiators wurde das Alloc-L-leucin-N-hydroxysuccinimidester **23** in einem zweistufigen Prozess nach DEMING mit einer Ausbeute von 91 % (Literatur 94 %) hergestellt.<sup>[156]</sup> Für die Einführung funktioneller Endgruppen werden entsprechende primäre Amine **24** mit **23** unter Abspaltung von N-Hydroxysuccinimid zum N<sub>α</sub>-Alloc-Aminosäurederivat **25** umgesetzt. Im Anschluss der Substitutionsreaktion wurden alle N<sub>α</sub>-Alloc-Aminosäurederivate **25** säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt, da meist Spuren von Edukten im Produkt enthalten waren. Mithilfe der <sup>1</sup>H-NMR- und <sup>13</sup>C-NMR-Spektroskopie wurden die Strukturen der Vorstufe **25** des Nickel-Initiators

analysiert. Im letzten Schritt erfolgt die Umsetzung des N $_{\alpha}$ -Alloc-Aminosäurederivats **25** zum initiiierenden Nickel-Komplex nach der Vorschrift von CURTIN et al.<sup>[39]</sup> Hierfür wird **25** mit Nickel-bis(cyclooctadien) [Ni(COD)<sub>2</sub>] und 1,10-Phenanthrolin (phen) oder Bipyridyl (bpy) als Ligand (L) unter Decarboxylierung und Abspaltung von 1-Propen zum initiiierenden Nickel-Komplex **26** umgesetzt. Der Syntheseweg des Nickel-Initiators **26** ist in der Abbildung 4.3 dargestellt.

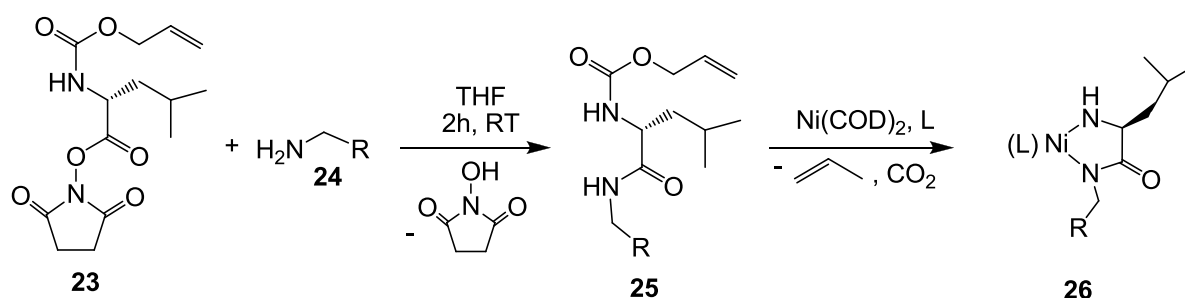
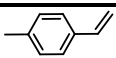
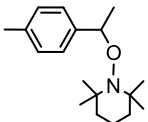
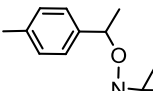
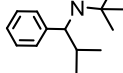
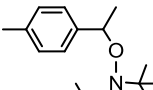



Abbildung 4.3: Allgemeiner Syntheseweg zur Darstellung des initiiierenden Nickel-Initiators.

Im ersten Schritt wird der COD-Ligand des Ni(COD)<sub>2</sub> gegen einen Liganden (phen oder bpy) ausgetauscht. Anschließend erfolgt eine Substitution des zweiten COD-Liganden des *in situ* gebildeten Komplexes mit dem N $_{\alpha}$ -Alloc-Aminosäurederivaten **25** über die NH-Bindung des Amids unter Decarboxylierung zum Amido-Amidat-Nickel-Komplex **26**. Die Umsetzung der letzten Stufe zum Nickel-Komplex erfolgte unter inerten Bedingungen, da Nickel-Verbindungen in der Oxidationsstufe Null empfindlich an Luftsauerstoff reagieren. Aufgrund des Paramagnetismus des Nickels kann eine Charakterisierung des Nickel-Komplexes **26** nicht mittels <sup>1</sup>H-NMR Spektroskopie erfolgen, sondern ist nur durch Elementaranalyse (EA) und IR-Spektroskopie möglich.

Tabelle 4.1: Ausbeute und Ergebnisse der Elementaranalyse der Amido-Amidat-Nickel-Komplexe **26**.

Ni-Initiator	Ligand	R	Ausbeute [%]	Elementaranalyse [%]		
				N exp.(theo.)	C exp. (theo.)	H exp. (theo.)
Ni(allyl)	phen		90	10,19 (13,76)	54,39 (61,85)	5,74 (5,94)
				-26%	-12 %	-3%
Ni(propargyl)	phen		55	11,12 (13,83)	55,96 (62,93)	6,07 (5,47)
				-19%	-10%	+11%
Ni(azid)	phen		75	13,61 (21,78)	52,62 (56,03)	6,10 (5,60)
				-37%	-6%	+9%

Ni-Initiator	Ligand	R	Ausbeute [%]	Elementaranalyse [%]		
				N <i>exp. (theo.)</i>	C <i>exp. (theo.)</i>	H <i>exp. (theo.)</i>
Ni(VBA)	phen		30	10,17 (11,57) -12%	59,25 (66,97) -12%	5,55 (6,04) -8%
Ni(TEMPO)*	phen		70	9,22 (10,93) -16%	57,11 (67,51) -15%	6,42 (7,40) -13%
Ni(TIPNO)-I	phen		34	8,53 (9,94) -14%	51,90 (69,89) -26%	5,43 (7,30) -25%
Ni(TIPNO)-II	bpy		29	8,05 (10,29) -22%	42,59 (68,83) -38%	5,03 (7,55) -33%
Ni(BIPNO)-I*	phen		31	9,30 (10,44) -11%	57,10 (68,06) -16%	6,50 (7,97) -18%
Ni(BIPNO)-II	bpy		16	8,46 (10,83) -22%	63,09 (66,88) -6%	8,98 (8,26) +9%

\*Die Synthese der Nickel-Katalysatoren Ni((BIPNO)-I und Ni(TEMPO) wurden von Fanru Meng-Leopold und Sven Hartwig im Rahmen eines Forschungspraktikums durchgeführt.

Die Elementaranalyse bezüglich der Elemente Kohlenstoff, Stickstoff und Wasserstoff liefert Auskunft über die Reinheit der hergestellten Nickel-Initiatoren. Allgemein wurden für die Nickel-Initiatoren für alle drei Elemente viel zu niedrige Gehalte mit Abweichungen von 3 bis 37 % gefunden (s. Tabelle 4.1). Eine Ausnahme bilden die Ni(propargyl), Ni(azid) und Ni(BIPNO)-II Initiatoren, die einen höheren Gehalt an Wasserstoff mit einer Abweichung vom Sollwert von 9 bis 11 % aufweisen. Die Abweichungen variieren zudem stark je nach Wahl des Liganden (phen oder bpy) und der über die Amingruppe eingeführten Endfunktion (R). Mit sterisch anspruchsvollen Endgruppen (R) nimmt die Verunreinigung des Nickel-Initiators stark zu. Dies spiegelt sich bei den beiden hergestellten Nickel-Initiatoren Ni(TIPNO)-I und Ni(TIPNO)-II mit der sterisch anspruchsvollsten Endgruppe wider. Auch die Ausbeuten zeigen einen gewissen Trend; mit kleinen funktionellen Endgruppen wie z.B. Allyl wurden sehr hohe Ausbeuten bis zu 90 % erhalten, hingegen ist die Ausbeute mit der Einführung von sterisch anspruchsvollen Gruppen wie z.B. TIPNO die Ausbeute mit 34 % (Ni(TIPNO)-I) bzw. 29 % (Ni(TIPNO)-II) eher gering. Somit scheint die Synthese für Nickel-Initiatoren von mehreren Faktoren abzuhängen.

In Abbildung 4.4 sind exemplarisch die IR-Spektren für die Nickel-Amido-Amidat-Komplexe **26** Ni(propargyl), Ni(allyl) und Ni(azid) dargestellt. Die charakteristischen FT-IR-Banden der Nickel-Initiatoren können nachgewiesen werden. Alle Spektren zeigen die Amidat-Bande bei ca.  $1572\text{ cm}^{-1}$ .<sup>[39]</sup> Zusätzlich gibt es Banden der Amidgruppe bei etwa  $1660\text{ cm}^{-1}$ . Aliphatische CH-Valenzschwingungen bei der Wellenzahl  $2956\text{ cm}^{-1}$  und NH-Valenzschwingungen im Bereich  $3400 - 3300\text{ cm}^{-1}$  können ebenfalls zugeordnet werden. Die starken Schwingungen für substituierten Aromate bei  $850\text{ cm}^{-1}$  und  $728\text{ cm}^{-1}$  sind charakteristisch für die Liganden (phen und bpy). Die IR-Spektren aller Nickel-Initiatoren sind relativ ähnlich. Einen erkennbaren Unterschied zeigt das Spektrum des Ni(azid) Initiators, wo die charakteristische Azid-Bande bei  $2100\text{ cm}^{-1}$  zu sehen ist. Für alle weiteren funktionellen Endgruppen der Nickel-Initiatoren **26** sind keine zusätzlichen Banden nachweisbar.

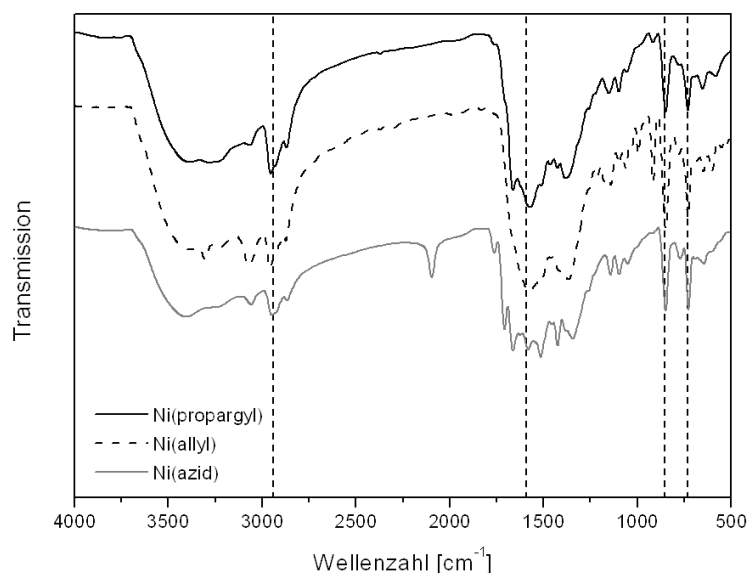


Abbildung 4.4: IR-Spektren des Nickel-Initiatoren Ni(propargyl), Ni(allyl) und Ni(azid).

Aus den Ergebnissen der quantitativen Charakterisierung mittels Elementaranalyse lässt sich schließen, dass die Darstellung der Nickel-Initiatoren mit speziellen Endgruppen nur bedingt möglich ist. Es lässt sich beobachten, dass besonders große, sterisch anspruchsvolle Gruppen und die Wahl des Liganden einen Einfluss auf die Synthese des Nickel-Initiators haben. Die Verunreinigungen im Nickel-Initiator **26** können die Aktivität des Komplexes als Initiator in der Polymerisation herabsetzen. Eine Voraussetzung der kontrollierten NCA Polymerisation ist die Einstellung des Molekulargewichtes  $M_n$  über das Monomer/Initiator-Verhältnis  $[M]/[I]$ . Im folgenden Kapitel werden die Ergebnisse der Polymerisationen mit allen hergestellten Nickel-Initiatoren vorgestellt und verglichen.

#### 4.1.1 Ergebnisse der Nickel-initiierten NCA Polymerisation

Die Nickel-initiierte NCA Polymerisation mit funktionalisierten Endgruppen wurde bereits in vorangehenden Arbeiten für die Herstellung von z.B. linearen Stäbchen-Knäuel Blockcopolymeren erfolgreich angewendet.<sup>[65, 162]</sup> Hierbei wurde ein Nickel-Initiator mit einer funktionellen Endgruppe für eine kontrolliert radikalische Polymerisation (NMP oder ATRP) synthetisiert. In der vorliegenden Arbeit wurden die synthetisierten Nickel-Initiatoren **26** für die NCA Polymerisation eingesetzt. Die Polymerisation wurde in Gegenwart des aktiven Nickel-Initiators **26** und  $\gamma$ -BLG-NCA als Monomer bei Raumtemperatur für 16 Stunden unter inerten Bedingungen mittels Schlenk-Technik durchgeführt (Abbildung 4.5). Generell wird als Lösungsmittel das *N,N*-Dimethylformamid (DMF) verwendet, da das entstehende Polypeptid dann während der Polymerisation homogen gelöst vorliegt. Um Luft und Feuchtigkeit während der NCA Polymerisation zu vermeiden, werden absolute Lösungsmittel eingesetzt. Bei der Aufarbeitung wird der endständige Nickel-Komplex unter sauren Bedingungen abgespalten, so dass ein endfunktionalisiertes PBLG mit einer primären Amin-Endgruppe resultiert. Mit der Nickel-initiierten Methode lassen sich PBLGs mit Ausbeuten von 81 bis 99 % herstellen. Die charakteristischen Peaks von PBLG wurden unter Verwendung des Helix-brechenden Lösungsmittels Trifluoressigsäure (TFA) im  $^1\text{H}$ -NMR nachgewiesen. Die funktionellen Endgruppen können allerdings aufgrund des hohen Molekulargewichtes des PBLG nicht detektiert werden, so dass eine Berechnung des Molekulargewichtes über das  $^1\text{H}$ -NMR nicht möglich ist.

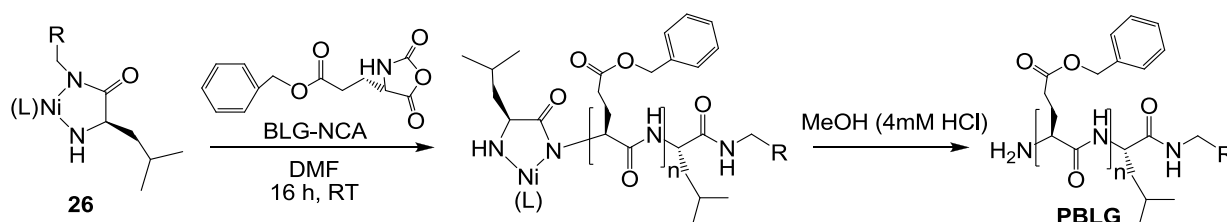


Abbildung 4.5: Synthese von PBLG durch die Ni-katalysierte Methode nach DEMING.

Die Molekulargewichte und die Polydispersitäten (PDs) der hergestellten PBLGs wurden mittels GPC-MALLS bestimmt. Um die Aggregation der PBLG-Blöcke zu verhindern, wird die GPC-Analytik in DMF mit LiBr als Lösungsmittel bei 60 °C durchgeführt.<sup>[36]</sup> In der Tabelle 4.2 sind die theoretisch erwarteten Molekulargewichte ( $M_{n(\text{theo})}$ ) unter Einbeziehung



des Umsatzes und die ermittelten Zahlenmittel des Molekulargewichtes ( $M_{n(\text{GPC})}$ ) sowie die PDs der erhaltenen PBLGs angeben.

Tabelle 4.2: Ergebnisse der Nickel-initiierten NCA Polymerisation unter Verwendung der Nickel-Initiatoren **26**.

Polymer	Nickel- Initiator	$M_{n(\text{theo})}$ [g/mol]	$M_{n(\text{GPC})}$ [g/mol]	PD	Umsatz X [%]
PBLG-(Ni)1	Ni(allyl)	14000	15000	1,15	89
PBLG-(Ni)2		29000	15000	1,04	48
PBLG-(Ni)3		22500	21000	1,15	79
PBLG-(Ni)4		23000	16000	1,07	54
PBLG-(Ni)5	Ni(propargyl)	18500	25000	1,47	96
PBLG-(Ni)6		22000	23000	1,40	94
PBLG-(Ni)7		15000	25000	1,30	93
PBLG-(Ni)8		11000	18000	1,27	96
PBLG-(Ni)9		28000	37000	1,37	96
PBLG-(Ni)10	Ni(azid)	19000	24000	1,41	94
PBLG-(Ni)11		12500	29000	1,49	100
PBLG-(Ni)12		18000	28000	1,59	92
PBLG-(Ni)13		12500	21000	1,38	99
PBLG-(Ni)14	Ni(VBA)	23000	13000	1,50	94
PBLG-(Ni)15		52500	20000	1,24	86
PBLG-(Ni)16		16500	17500	1,41	98
PBLG-(Ni)17		14000	19000	1,34	94
PBLG-(Ni)18	Ni(TEMPO)	45000	40000	1,37	90
PBLG-(Ni)19		35000	32000	1,43	91
PBLG-(Ni)20		19000	22000	1,33	86
PBLG-(Ni)21	Ni(TIPNO)- <b>I</b>	96000	34000	1,40	90
PBLG-(Ni)22		27000	21000	1,42	96
PBLG-(Ni)23		41500	28000	1,49	91
PBLG-(Ni)24		19000	23000	1,48	95
PBLG-(Ni)25	Ni(TIPNO)- <b>II</b>	15500	22500	1,37	97
PBLG-(Ni)26		52000	27000	1,38	90
PBLG-(Ni)27		13500	16500	1,35	97
PBLG-(Ni)28	Ni(BIPNO)- <b>I</b>	15000	18000	1,46	97
PBLG-(Ni)29		29000	23000	1,17	89
PBLG-(Ni)30		51000	32000	1,40	96
PBLG-(Ni)31		17000	24000	1,45	96

Polymer	Nickel- Initiator	$M_{n(\text{theo})}$ [g/mol]	$M_{n(\text{GPC})}$ [g/mol]	PD	Umsatz X [%]
PBLG-(Ni)32	Ni(BIPNO)- <b>II</b>	44000	25000	1,06	81
PBLG-(Ni)33		20000	12000	1,05	82
PBLG-(Ni)34		29000	19000	1,12	92
PBLG-(Ni)35		33000	14000	1,26	82

Unter Einbeziehung des Umsatzes wurden Molekulargewichte in einem breiten Bereich von 11000 bis 96000 g/mol eingestellt. Die experimentell ermittelten Molekulargewichte der hergestellten Polypeptide liegen allerdings in einem engeren Bereich von 12000 bis 40000 g/mol mit einer PD von 1,04 bis 1,59. Ein höheres Molekulargewicht ( $M_{n(\text{theo})} > 40000$  g/mol) wurde in mehreren Ansätzen mit den Nickel-Initiatoren Ni(VBA), Ni(TEMPO), Ni(TIPNO) und Ni(BIPNO) versucht herzustellen. Die Ergebnisse zeigen jedoch, dass keine PBLGs mit höheren Molekulargewichte erreichbar sind, unabhängig vom eingesetzten Nickel-Initiator. In den Arbeiten von DEMING et al. wurden bisher nur aliphatische oder arylhaltige Endgruppen in den Nickel-Initiatoren eingeführt.<sup>[39]</sup> Die eingesetzten Initiatoren in der NCA Polymerisation lieferten PBLGs mit Molekulargewichten zwischen 5000 und 50000 g/mol. Es wird allerdings nicht beschrieben, ob auch höhere Molekulargewichte mit solchen Nickel-Initiatoren möglich sind.

In dieser Arbeit sind Polypeptide mit den kleinsten Molekulargewichten von  $M_n \leq 15000$  g/mol mit den Initiatoren Ni(allyl), Ni(VBA) und Ni(BIPNO)-**II** erzielt worden. Große Molekulargewichte bis zu 40000 g/mol konnten hingegen nur mit dem Ni(TEMPO) Initiator erreicht werden. Anhand der Ergebnisse lässt sich zudem ein allgemeiner Trend beobachten: Wird ein Molekulargewicht unterhalb von 20000 g/mol über das Monomer/Initiator-Verhältnis eingestellt, so werden stets höhere Molekulargewichte erhalten. Bei einem eingestellten Molekulargewicht über 29000 g/mol werden hingegen nur kleinere Molekulargewichte erzielt. Eine Ausnahme wird bei den durchgeführten Experimenten mit dem Ni(BIPNO)-**II** als Initiator beobachtet. Hier wurden durchgehend deutlich niedrigere Molekulargewichte als eingestellt erhalten. Für die beiden Ni(propargyl) und Ni(azid) Initiatoren verläuft der Trend umgekehrt; hier wurden stets höhere Molekulargewichte als eingestellt erhalten. Die Elementaranalysen der hergestellten Nickel-Amido-Amidat-Komplexe lassen Verunreinigungen im initiierten Komplex vermuten (vgl. Kapitel 4.1, Tabelle 4.1), die für eine geringere Aktivität des Initiators verantwortlich sind und somit zu

Polypeptiden mit höherem Molekulargewicht führen. Ähnliche Effekte konnten DEMING et al. beobachten und stellten fest, dass vermutlich zu Beginn der NCA Polymerisation nicht alle vorhandenen Metallzentren als aktiv zur Verfügung stehen.<sup>[95]</sup> Zudem spielt die Reinheit des NCAs in der Polymerisation eine große Rolle. Säurehaltige Nebenprodukte im NCA können die Aktivität des Katalysators ebenfalls herabsetzen und so das Molekulargewicht erhöhen.<sup>[28]</sup> Eine geringere Aktivität des Initiators kann in den Polymerisationen mit zu niedrig erreichten Molekulargewichten, nicht der Grund sein. Somit liegt unter Einbeziehung der Gleichung  $M_{(n,theo)} = [M]/[I] \cdot p \cdot M_0$  für kontrollierte Polymerisationen die Vermutung nahe, dass Verunreinigungen im Monomer der Grund für die Ursache sind. Schon kleinste Verunreinigungen, wie z.B. Wasserspuren im NCA, können zu Kettenabbrüchen führen, die ebenfalls in niedrige Molekulargewichte resultieren würden. Diese Möglichkeit erscheint aber als unwahrscheinlich, da stets hohe Umsätze zwischen 79 und 100 % für alle NCA Polymerisationen erreicht wurden. Bisher lässt sich nicht eindeutig klären, warum ein niedrigeres Molekulargewicht als eingestellt erhalten wird. Es muss aber davon ausgegangen werden, dass die Reaktivität des Nickel-Initiators eine wichtige Rolle in der NCA Polymerisation spielt.

Ein Unterschied konnte beim Einsatz der Nickel-Initiatoren in Bezug auf die Polydispersität festgestellt werden. Mit den beiden Ni(allyl) und Ni(BIPNO)-**II** Initiatoren konnten sehr niedrige PDs bis zu 1,04 erreicht werden, was für eine kontrollierte NCA Polymerisation spricht. Hohe Polydispersitäten mit einem Wert bis zu 1,59 wurden hingegen mit dem Ni(azid) Initiator beobachtet. In Abbildung 4.6 sind zum Vergleich die GPC-Chromatogramme der beiden Polypeptide PBLG-(Ni)2 mit der niedrigsten PD von 1,04 ( $M_{n(GPC)} = 15000$  g/mol) und PBLG-(Ni)12 mit der höchsten PD von 1,59 ( $M_{n(GPC)} = 28000$  g/mol) dargestellt. Die beiden Chromatogramme verlaufen monomodal, unterscheiden sich aber hinsichtlich der Molekulargewichtsverteilung und des Molekulargewichts.

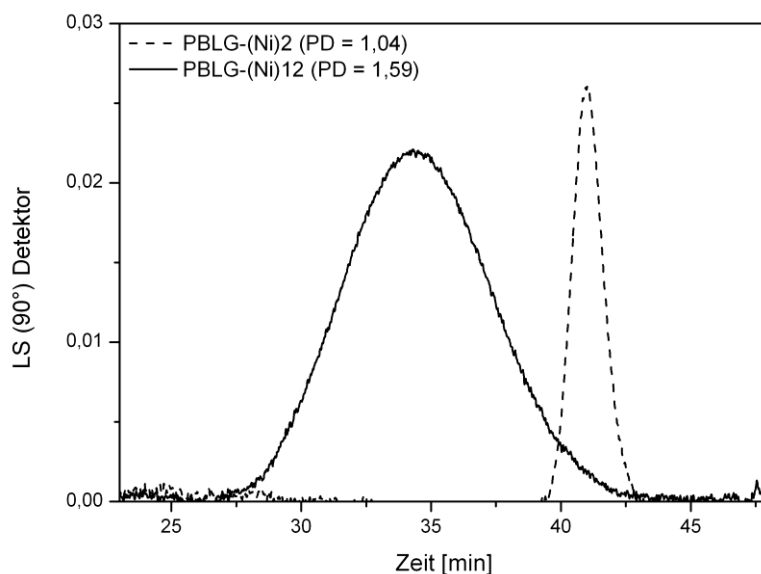


Abbildung: 4.6: Vergleich der beiden GPC-Chromatogramme der Polypeptide PBLG-(Ni)2 mit einer PD von 1,04 ( $M_n = 15000$  g/mol) und PBLG-(Ni)12 mit einer PD von 1,59 ( $M_n = 28000$  g/mol).

Insgesamt wurden Nickel-Initiatoren mit vielen unterschiedlichen funktionellen Endgruppen für die NCA Polymerisation eingesetzt, die alle Polypeptide mit hohen Ausbeuten lieferten. Eine Einstellung des Molekulargewichtes über das  $[M]/[I]$ -Verhältnis konnte allerdings nicht realisiert werden. Dennoch wurden für alle Polypeptide relativ enge, monomodale GPC-Chromatogramme mit Polydispersitäten zwischen 1,04 bis 1,59 erhalten, was darauf hinweist, dass die NCA Polymerisationen nach dem gewünschten kontrollierten Mechanismus verlaufen. Warum Molekulargewichte über 40000 g/mol nicht erreicht werden konnten, kann nicht eindeutig geklärt werden. Die Ergebnisse lassen aber vermuten, dass die funktionelle Gruppe des Nickel-Initiators die Reaktivität in der Polymerisation herabsenkt.

Als Vergleich sollten auch endfunktionalisierte PBLGs über den amin-initiierten NCA Mechanismus hergestellt werden. Diese Methode liefert PBLGs mit eher kleinen Molekulargewichten. Die Ergebnisse der Synthese und Charakterisierung sollen im Anschluss des folgenden Kapitels mit den Ergebnissen aus der Nickel-initiierten Polymerisation gegenübergestellt werden.

#### 4.1.2 Ergebnisse der amin-initiierten NCA Polymerisation

Die amin-initiierte NCA Polymerisation ist die in der Literatur am häufigsten angewandte Methode zur Herstellung von wohldefinierten Polypeptiden. Als Initiatoren werden meist primäre Amine für die ROP von NCA eingesetzt, da hier die Polymerisation gewöhnlich nach dem „Amin-Mechanismus“ verläuft (s. Kapitel 3.1.1.1). Eine Kontrolle über die NCA Polymerisation kann nur erreicht werden, wenn die Amin-Endgruppe am wachsenden Polymer, die einzig initiiierende Spezies ist und keine Nebenreaktionen auftreten.<sup>[28]</sup> Die Voraussetzungen bei dem der Initiierungsschritt schneller als der Wachstumsschritt ist, werden im Allgemeinen mit primären Aminen als Initiatoren erfüllt. Da schon Wasserspuren die NCA Polymerisation initiieren können, muss unter inerten und trockenen Bedingungen gearbeitet werden. Daneben spielt die Temperatur in der amin-initiierten NCA Polymerisation eine wesentliche Rolle. Aufgrund der Arbeiten von VAYABOURY et al.<sup>[30]</sup> und der Arbeitsgruppe von HEISE<sup>[32, 198]</sup> wurden die NCA Polymerisationen bei 0 °C unter Inertgas mittels Schlenk-Technik durchgeführt. Die Polymerisationszeit verlängert sich durch die Erniedrigung der Reaktionstemperatur auf 5 Tage und wird analog zur Nickel-initiierten Methode in abs. DMF durchgeführt. Funktionelle Endgruppen können über die primären Amine leicht ans Polypeptidkettenende eingeführt werden. Als funktionalisierte Amine wurden das 1-Azido-3-aminopropan **17** sowie die beiden kommerziell erhältlichen Amine Propargylamin **16** und 4-Vinylbenzylamin (VBA) **18** als Initiatoren eingesetzt. Für die Darstellung makromolekularer Strukturen können die beiden funktionellen Gruppen aus **16** und **17** für die nachfolgende Kupplungsreaktion „Click-Chemie“ eingesetzt werden. Die Synthese von **17** wurde nach der Vorschrift von LECOMMANDOUX et al.<sup>[63]</sup> durchgeführt und konnte mit <sup>1</sup>H-NMR erfolgreich charakterisiert werden. Als Vinyl-Funktion wurde das hochreaktive Amin **18** gewählt, da es die Möglichkeit bietet, eine frei radikalische Polymerisation an der Doppelbindung durchzuführen, wie die Arbeitsgruppe HEISE bereits zeigen konnte.<sup>[134]</sup> Die hergestellten Makromonomere mit Vinyl-Funktion wurden im Rahmen dieser Arbeit für die Darstellung von makromolekularen Strukturen nicht weiter eingesetzt, sondern dienen lediglich als Vergleich der Reaktivität in der NCA Polymerisation zu den anderen primären Aminen. In Abbildung 4.7 ist die amin-initiierte NCA Polymerisation mit den ausgewählten Aminen dargestellt.

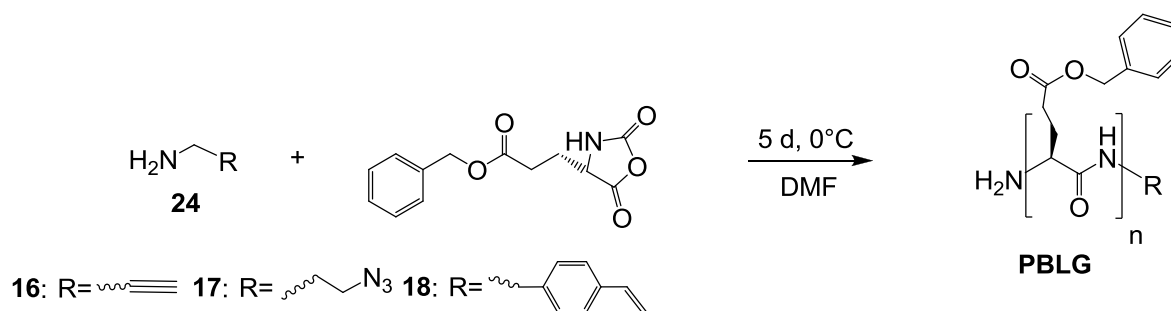


Abbildung 4.7: amin-initiierte NCA Polymerisation von  $\gamma$ -BLG-NCA mit **16**, **17** oder **18** als Initiatoren.

In der Tabelle 4.3 sind die tatsächlichen Molekulargewichte, die Polydispersitäten, die eingestellten Molekulargewichte unter Einbeziehung der Umsätze sowie die ermittelte Kettenlänge aus der  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie zusammengefasst.

Tabelle 4.3: Ergebnisse der amin-initiierten NCA Polymerisation unter Verwendung der funktionellen Amine **16-18** für 5 Tage bei  $0^\circ\text{C}$ .

Polymer	$M_{n(\text{theo})}$ [g/mol]	$M_{n(\text{GPC})}$ [g/mol]	PD	$^1\text{H-NMR}$ $M_n/P_n$	Umsatz X [%]
PBLG-(propargyl)-1	5900	5500	1,02	5500 / 25	89
PBLG-(propargyl)-2	9200	8900	1,04	9000 / 41	86
PBLG-(propargyl)-3	5600	6400	1,07	6400 / 29	84
PBLG-(propargyl)-4	8600	7900	1,19	7500 / 34	87
PBLG-(propargyl)-5	3500	4400	1,14	n.b.	93
PBLG-(propargyl)-6	2700	3400	1,15	2900 / 13	95
PBLG-(propargyl)-7	11700	10700	1,02	n.b.	67
PBLG-(propargyl)-8	4600	5000	1,03	4600 / 21	87
PBLG-(propargyl)-9	6300	6100	1,02	6400 / 29	75
PBLG-(propargyl)-10	13000	11500	1,06	11200 / 51	62
PBLG-(VBA)-1	3900	5300	1,30	n.b.	98
PBLG-(VBA)-2	6000	6500	1,28	n.b.	91
PBLG-(VBA)-3	9300	7500	1,13	n.b.	84
PBLG-(azid)-1	6400	7300	1,06	6400 / 29	96
PBLG-(azid)-2	8000	7500	1,04	4600 / 21	76
PBLG-(azid)-3	10400	7000	1,11	6400 / 29	67
PBLG-(azid)-4	5600	6200	1,05	5500 / 25	84

Mit der amin-initiierten NCA Polymerisation konnten Molekulargewichte zwischen 3400 und 11500 g/mol erreicht werden. Die theoretisch erwarteten Molekulargewichte unter Einbeziehung der Umsätze liegen in einem Bereich von 2700 bis 13000 g/mol. Die

Ergebnisse zeigen eine recht gute Übereinstimmung zwischen den erwarteten und eingestellten Molekulargewichten, was für einen kontrolliert ablaufenden Mechanismus spricht. Zudem konnten niedrige Polydispersitäten von 1,02 bis 1,30 erreicht werden, was ebenfalls den kontrollierten Charakter der Polymerisation bestätigt. Es wurden Umsätze zwischen 62 und 98 % erreicht. Dabei scheint der Umsatz vom eingestellten Molekulargewicht der Polymerisation abhängig zu sein. Besonders hohe Umsätze wurden bei der Einstellung kleiner Molekulargewichte ( $M_{n(\text{theo})} < 9000 \text{ g/mol}$ ) erreicht. Bei theoretischen Molekulargewichten über 10000 g/mol wie z.B. bei PBLG-(propargyl)-7, PBLG-(propargyl)-10 und PBLG-(azid)-3 wurden Umsätze von 62 bzw. 67 % erreicht. Dennoch konnten für die beiden PBLG-(propargyl)-7 mit  $M_{n(\text{GPC})} = 10700 \text{ g/mol}$  ( $M_{n(\text{theo})} = 11700 \text{ g/mol}$ ) und PBLG-(propargyl)-10 mit  $M_{n(\text{GPC})} = 11500 \text{ g/mol}$  ( $M_{n(\text{theo})} = 13000 \text{ g/mol}$ ) gute Übereinstimmungen zwischen  $M_{n(\text{GPC})}$  und  $M_{n(\text{theo})}$  erzielt werden. Lediglich das PBLG-(azid)-3 weist eine große Abweichung zwischen  $M_{n(\text{GPC})}$  und  $M_{n(\text{theo})}$  auf. Ein möglicher Grund für die Abweichung kann der Auftritt von Nebenreaktionen wie z.B. Reaktionen mit dem Lösungsmittel DMF oder intramolekulare Abbruchreaktionen sein.<sup>[27]</sup> Wobei die niedrige PD mit 1,11 und die enge monomodale Verteilung bei PBLG-(azid)-3 gegen Nebenreaktionen sprechen. Eine Kontrolle in der amin-initiierten NCA Polymerisation sollte erreicht werden, wenn die Reaktionsbedingungen für den Amin-Mechanismus optimiert werden wie z.B. durch Erniedrigung der Reaktionstemperatur auf 0 °C oder der Verwendung der HV-Technik.<sup>[29, 30]</sup> Die Polymerisationen wurden hier alle bei 0 °C durchgeführt, dennoch kann eine vollständige Unterdrückung der Nebenreaktionen nicht sichergestellt werden. Eine wichtige Rolle in der kontrollierten NCA Polymerisation kann die Reaktivität des Amin-Initiators spielen. Die Ergebnisse unter Verwendung des Initiators **17** lassen vermuten, dass die Einstellung des Molekulargewichtes über das NCA/Amin-Verhältnis nur bedingt möglich ist. Die Molekulargewichte der hergestellten PBLGs mit dem Initiator **17** liegen zwischen 6200 bis 7500 g/mol und weichen von dem erwarteten Molekulargewichtsbereich mit 5600 bis 10400 g/mol ab. Möglicherweise sind bei der Synthese des Initiators Verunreinigungen entstanden, die mit der <sup>1</sup>H-NMR Spektroskopie nicht nachgewiesen werden konnten. Eine geringe Konzentration des Initiators kann dazu führen, dass das tatsächliche Molekulargewicht größer als berechnet ist. Auch diese Möglichkeit ist eher unwahrscheinlich, da alle durchgeführten Polymerisationen mit dem Initiator **17** zum gleichen Resultat führen sollten.

Alle erhaltenen Polymere zeigen enge und monomodale Molekulargewichtsverteilungen. Im Folgenden werden Beispiele für die GPC-Chromatogramme von drei ausgewählten Polymeren PBLG-(propargyl)-3, PBLG(azid)-4 und PBLG(VBA)-2 mit ähnlichem Molekulargewicht vorgestellt, die sich aber hinsichtlich des verwendeten Initiators **16**, **17** oder **18** unterscheiden. In den Abbildungen 4.8 und 4.9 sind die GPC-Chromatogramme der ausgewählten Polymere mit dem RI-Signal und dem Lichtstreusignal bei 90 ° gegen die Elutionszeit dargestellt. Die Molekulargewichtsverteilungen, detektiert mit dem RI-Detektor, zeigen sehr enge und monomodale Chromatogramme. Da die Molekulargewichte sehr ähnlich sind, eluieren auch die Polymere zu ähnlichen Elutionszeiten.

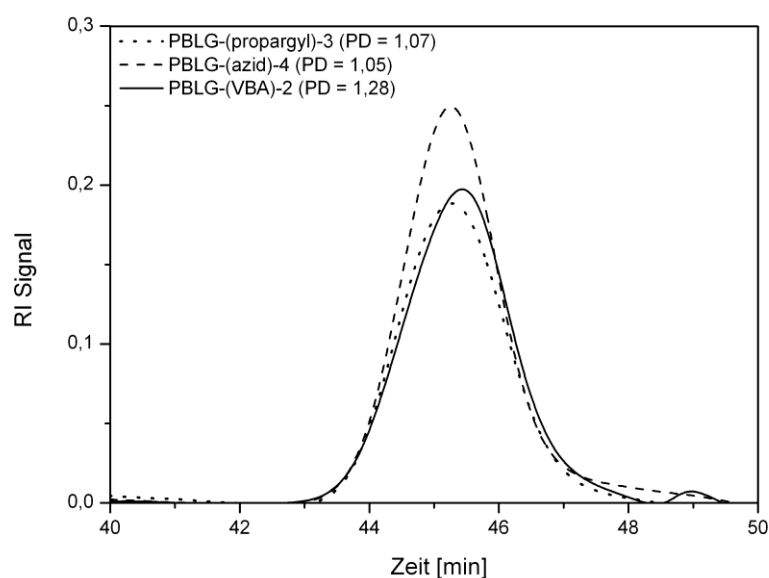


Abbildung 4.8: GPC-Chromatogramme detektiert mit dem RI-Signal der Polymere PBLG-(propargyl)-3, PBLG(azid)-4 und PBLG(VBA)-2.

Die in Abbildung 4.9 dargestellten Chromatogramme der beiden Polymere PBLG-(propargyl)-3 und PBLG(VBA)-2 mit dem Lichtstreusignal sind beide im niedermolekularen Bereich monomodal. Ein weiteres Signal, das nicht dem PBLG zuzuordnen ist, konnte im hochmolekularen Bereich detektiert werden. Das Signal resultiert aus der frei radikalischen Autopolymerisation des 4-Vinylbenzylamins **18** (VBA), die während der NCA Polymerisation bei 0 °C stattgefunden hat oder schon vor der Polymerisation aufgetreten ist. VBA ist hochreaktiv und wird daher mit MEHQ (*p*-Methoxyphenol) stabilisiert sowie bei -30 °C gelagert. Aufgrund der hohen Reaktivität kann daher nicht vollkommen ausgeschlossen werden, dass im kommerziell erhältlichen Produkt bereits eine geringe Menge



an vernetztem VBA vorlag. Allerdings zeigt eine quantitative GPC-Analytik mit dem RI-Detektor kein zusätzliches Signal, somit muss die Menge an vernetztem Polymer sehr gering sein.

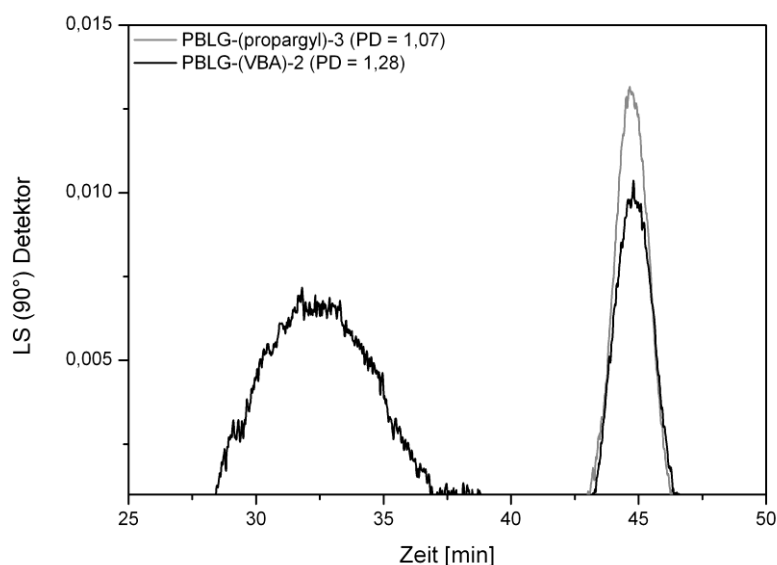


Abbildung 4.9: GPC-Chromatogramme detektiert mit dem LS-Signal bei 90 °C der Polymere PBLG-(propargyl)-3 und PBLG(VBA)-2.

Endfunktionalisiertes PBLG wurde mithilfe von  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie und MALDI-ToF-Spektrometrie für die Bestimmung der Molekulargewichte bzw. den Nachweis einer Endgruppe charakterisiert. Im Folgenden soll eine vollständige Charakterisierung von Azid- und Propargyl-endfunktionalisierten PBLG vorgestellt werden. Eine weitere Methode für die Bestimmung der Molekulargewichte von Polymeren ist die Charakterisierung mittels  $^1\text{H}$ -NMR über die Protonensignale der Endgruppen. In den Abbildungen 4.10 und 4.11 sind zwei exemplarische Beispiele der Zuordnungen der entsprechenden Protonensignale der Azid- bzw. Propargylverbindung zum Polymer dargestellt.

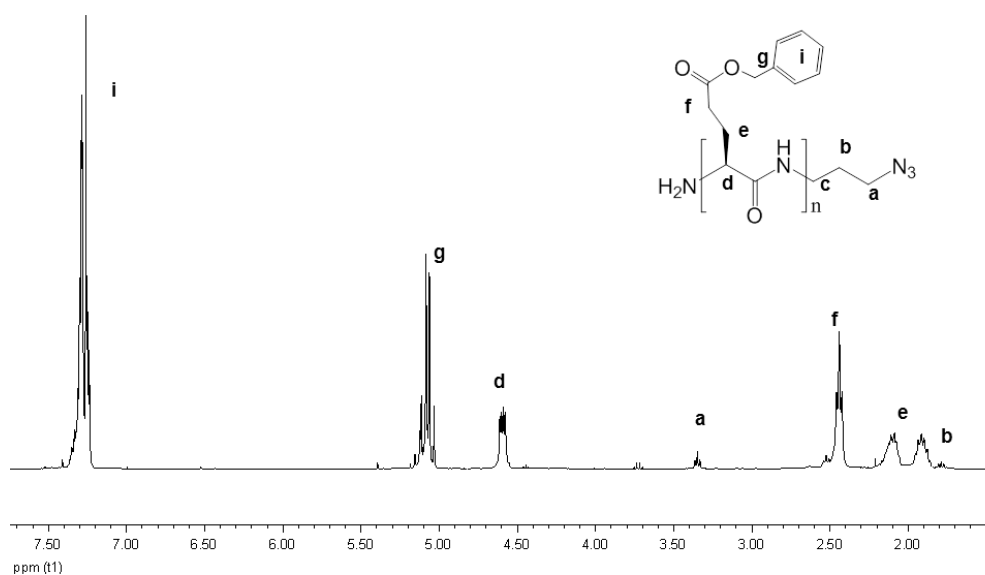


Abbildung 4.10:  $^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ +15% TFA, 400 MHz) Spektrum von PBLG-(azid)-4.

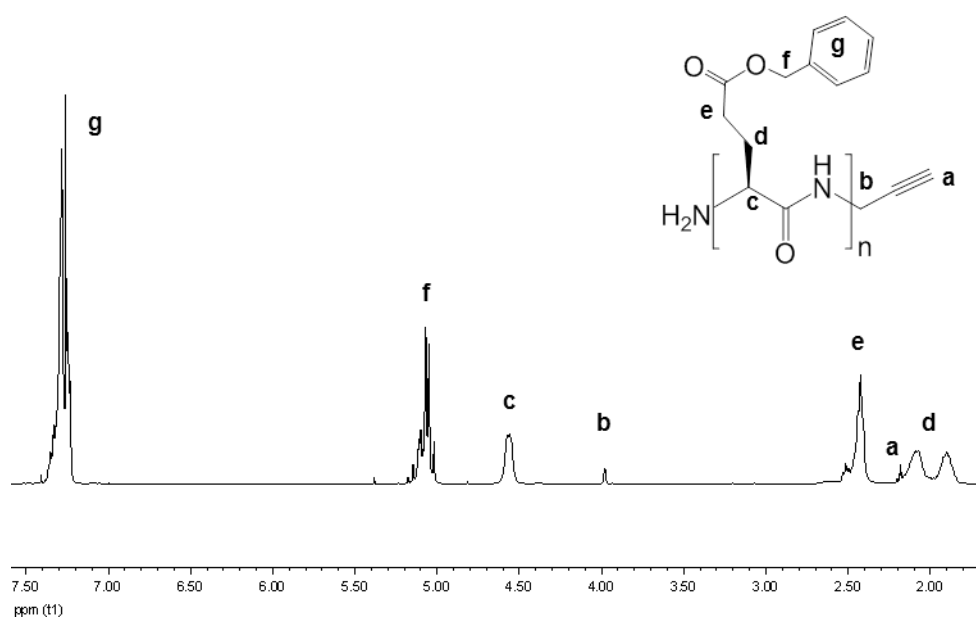


Abbildung 4.11:  $^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ +15% TFA, 400 MHz) Spektrum von PBLG-(propargyl)-8.

In beiden Fällen können aus den  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren ( $\text{CDCl}_3$  + 15 wt % TFA) die charakteristischen Protonen der funktionellen Gruppen der Amin-Initiatoren **16** und **17** sowie die Peaks des Polymers zugeordnet werden. Zum Beispiel werden in Abbildung 4.10 die Methylenprotonen der Azid-Funktion in PBLG-(azid)-4 bei 3,3 ppm zu den charakteristischen Methylenprotonen der PBLG Polymerkette bei 5,0 ppm durch Integration berechnet, welches über den ermittelten Polymerisationsgrad  $P_n$  das Zahlenmittel des Molekulargewichtes ( $M_n$ ) wiedergibt. Die Molekulargewichte werden im Fall des PBLG-(propargyl) über die

Intensitäten der Signale der Methylenprotonen der Endgruppe ( $-CH_2-C\equiv CH$ ) bei 3,95 ppm mit dem charakteristischen Signal der Methylenprotonen der PBLG Kette bei 5,0 ppm berechnet (s. Abbildung 4.11). Die gewonnenen Daten aus der  $^1H$ -NMR Spektroskopie sind in der Tabelle 4.3 zusammengefasst. Für die PBLGs mit einer Azid-Endfunktion wurde eine Diskrepanz der ermittelten Molekulargewichte zwischen  $M_{n(GPC)}$  und  $M_{n(^1H-NMR)}$  beobachtet. Die Ergebnisse der tatsächlichen Molekulargewichte  $M_{n(^1H-NMR)}$  für die hergestellten PBLGs mit Propargylamin **16** als Initiator stimmen mit den Daten aus der GPC-MALLS Analytik sehr gut überein.

Die Anwesenheit einer Endgruppe konnte mittels MALDI-ToF Messungen bestätigt werden. In den Abbildungen 4.12 und 4.13 sind exemplarisch die Spektren der PBLGs mit einer Azid- bzw. Propargyl-Endfunktion dargestellt. Für das aufgenommene Spektrum des PBLG-(azid)-2 wurden zwei Serien gefunden. Die Peaks der Hauptserie mit einem Maximum bei ca. 6052 Da entspricht PBLG mit einer Azid-Endgruppe mit einer Wiederholungseinheit von  $n = 27 (+ K^+)$ . Zudem zeigen beide Serien einen Abstand von 219 Da zwischen den Peaks, was einer  $\gamma$ -BLG-NCA-Monomereinheit von PBLG entspricht. Die Nebenserie weist einen Abstand zur Hauptserie von 70 Da auf und kann weder PBLG mit Azid-Endgruppe noch PBLG ohne Azid-Endgruppe zugeordnet werden. Welche Endgruppe hier vorliegt und nach welchem Mechanismus diese entstanden ist, bleibt zunächst unklar.

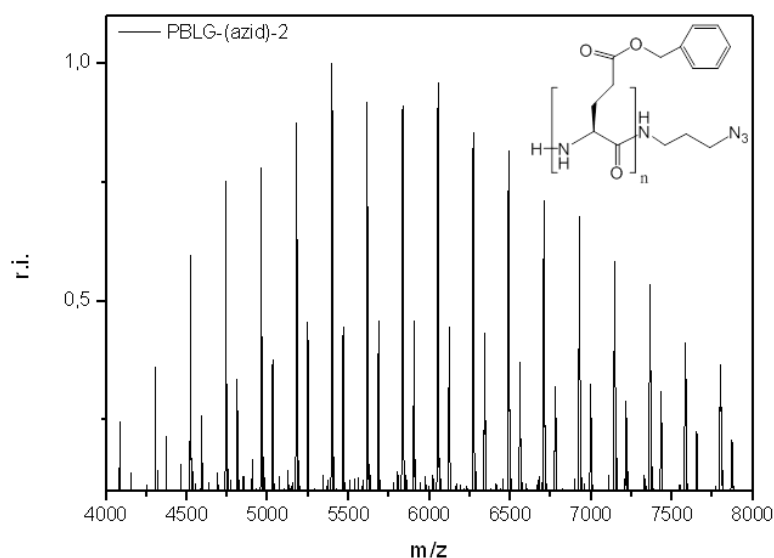


Abbildung 4.12: MALDI-ToF-Spektrum des PBLG-(azid)-2 mit  $K^+$ .

In Abbildung 4.13 ist das MALDI-ToF Spektrum von PBLG-(propargyl)-2 dargestellt. Das Spektrum zeigt ebenfalls zwei Serien. Die Hauptserie entspricht PBLG mit funktioneller Endgruppe. Eine Masse von 6445 Da kann einer Wiederholungseinheit von  $n = 29$  ( $K^+$ ) zugeordnet werden. In beiden Serien wurde der Abstand einer  $\gamma$ -BLG-NCA-Monomereinheit von PBLG wiedergefunden. Die Nebenserie weist einen Abstand zur Hauptserie von etwa 70 Da auf und kann bisher noch nicht eindeutig zugeordnet werden. Welcher Mechanismus zur dieser Endgruppe geführt haben könnte, kann bisher nicht eindeutig geklärt werden.

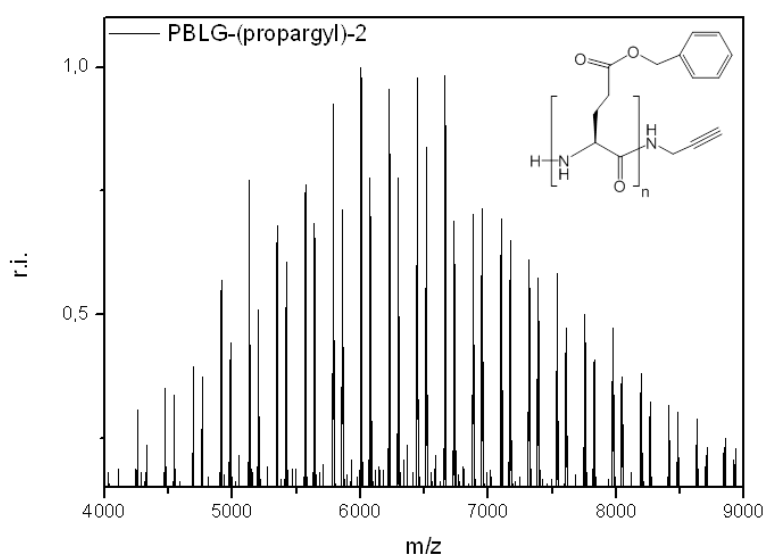


Abbildung 4.13: MALDI-ToF-Spektrum des PBLG-(propargyl)-2 mit  $K^+$ .

Die Ergebnisse aus der GPC, MALDI-ToF sowie  $^1H$ -NMR-Analytik weisen insgesamt darauf hin, dass die amin-initiierte NCA Polymerisation kontrolliert verlaufen sein muss. Im folgenden Kapitel sollen nun die Ergebnisse aus der Nickel-initiierten mit den Ergebnissen der amin-initiierten Methode verglichen werden.

#### 4.1.3 Zusammenfassung

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass sich die Nickel-initiierte NCA Polymerisation wie auch die amin-initiierte Methode eignen, um Polypeptide herzustellen. Ferner konnten mit beiden Methoden hohe Umsätze erreicht werden. Die Nickel-initiierte Polymerisation liefert im Durchschnitt etwas höhere Ausbeuten. Ein großer Vorteil der Nickel-initiierten

Methode ist die kurze Reaktionszeit von 16 h sowie das Arbeiten bei Raumtemperatur. Die amin-initiierte Polymerisation von  $\gamma$ -BLG-NCA wird hingegen bei 0 °C sowie einer Reaktionszeit von 5 Tagen durchgeführt. Ein Vergleich der Initiatorsynthese zeigt, dass Nickel-Initiatoren erst mit hohem experimentellem Aufwand über einen mehrstufigen Syntheseweg zugänglich sind. Auch kann die Aufklärung der Struktur der Nickel-Initiatoren nur über wenige Charakterisierungsmöglichkeiten wie die Elementaranalyse oder FT-IR-Spektroskopie erfolgen. Die Struktur der Amin-Initiatoren als auch der damit hergestellten PBLGs kann mittels  $^1\text{H-NMR}$  aufgeklärt werden.

In der Synthese von PBLG konnten unter Verwendung der Nickel-Initiatoren Polymere mit hohen Molekulargewichten im Bereich von 12000 g/mol bis 40000 g/mol hergestellt werden. Die amin-initiierte Methode liefert Polypeptide mit kleinen Molekulargewichten von 3400 g/mol bis 11500 g/mol. Die Ergebnisse stimmen mit denen aus der Theorie überein (s. Theorie-Kapitel 3.1). Die Polydispersitäten für die Nickel-initiierte Methode liegen im Bereich zwischen 1,04 bis 1,59 und für die amin-initiierte Methode zwischen 1,02 und 1,30. Mit beiden Polymerisationsmethoden können folglich ähnlich eng verteilte PBLGs hergestellt werden. Ein großer Unterschied zeigte sich jedoch in der Übereinstimmung des eingestellten zum experimentell mittels GPC-MALLS bestimmten Molekulargewicht. Die nachfolgende Grafik in Abbildung 4.14 soll die Ergebnisse aus der amin-initiierten bzw. Nickel-initiierten Polymerisation veranschaulichen.

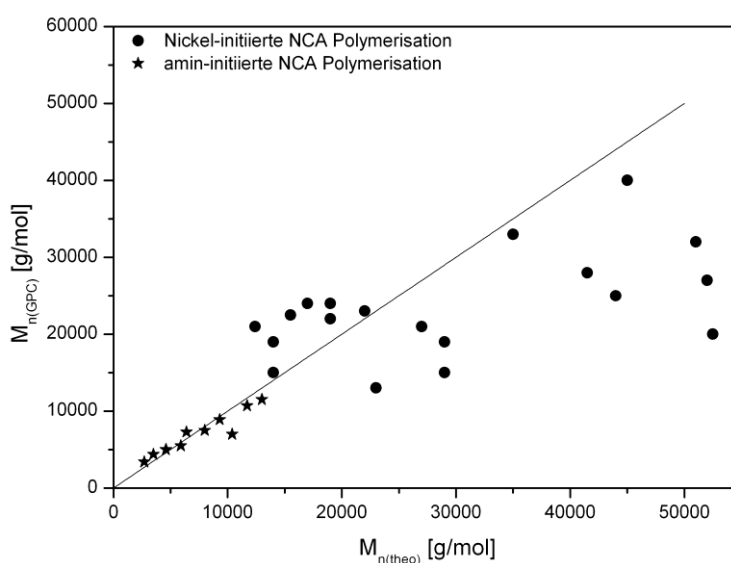


Abbildung 4.14: Vergleich des  $M_{n(\text{theo})}$  zum  $M_{n(\text{GPC})}$  der durchgeführten amin-initiierten und Nickel-initiierten NCA Polymerisationen.

Aufgetragen ist das experimentell bestimmte Molekulargewicht gegen das unter Einbeziehung des Umsatzes berechnete der einzelnen NCA Polymerisationen. Es ist deutlich zu erkennen, dass die Ergebnisse für die amin-initiierten Polymerisationen relativ gut mit dem erwarteten Molekulargewicht  $M_{n(\text{theo})}$  (durchgezogene Linie) übereinstimmen. Die Ergebnisse der Nickel-initiierten Methode zeigen kein einheitliches Bild und liegen verstreut um  $M_{n(\text{theo})}$ . Es kann allerdings beobachtet werden, dass ab einem bestimmten eingestellten Molekulargewicht ( $M_{n(\text{theo})} \geq 29000 \text{ g/mol}$ ) die experimentell ermittelten Molekulargewichte ( $M_{n(\text{GPC})}$ ) deutlich niedriger liegen (Vgl. Tabelle 4.2). Des Weiteren veranschaulicht die Grafik eine Diskrepanz bei einem eingestellten Molekulargewicht unter 20000 g/mol. Dort werden Polypeptide meist mit höherem Molekulargewichten erhalten. Insgesamt kann gesagt werden, dass die Ergebnisse aus der amin-initiierten Polymerisation allen Voraussetzungen einer kontrollierten Polymerisation entspricht. Die Ergebnisse der Nickel-initiierten Polymerisation deuten ebenfalls auf einen kontrollierten Charakter der Polymerisation hin. Allerdings ist die Reinheit des Nickel-Initiators limitiert und damit die Einstellung des Molekulargewichtes nur bedingt möglich.

## 5 Synthese von sternförmigen Polypeptiden

Für die Darstellung von wohldefinierten sternförmigen Polypeptiden wird die Synthesestrategie des „*coupling-onto*“-Ansatzes verfolgt. Wie bereits in Kapitel 3.3.1 beschrieben wurde, hat der „*coupling-onto*“-Ansatz den großen Vorteil, dass die Polymerarme vor der Kupplungsreaktion zum Sternpolymer charakterisiert werden können. Dadurch kann die Funktionalität des Sterns mit großer Genauigkeit analysiert werden. Als effektive Kupplungsreaktion wird in dieser Arbeit die Cu(I)-katalysierte Azid-Alkin<sup>D</sup> Cycloaddition (CuAAC), auch bekannt als „Click“-Reaktion, eingesetzt.<sup>[199]</sup> Die „Click-Chemie“ wird häufig für die Darstellung von makromolekularen Strukturen aufgrund der hohen Effektivität, der Toleranz gegenüber vielen funktionellen Gruppen sowie der quantitativen Ausbeuten eingesetzt. Die benötigten PBLG-Makromonomere mit entsprechenden Endgruppen sollen als Arme an multifunktionelle Verknüpfungsreagenzien gekuppelt werden. Die „Click“-Reaktion zwischen Verknüpfungsreagenz und PBLG-Arm mit verschiedenen Molekulargewichten soll auf die Kupplungseffektivität untersucht werden. Um einen breiten Molekulargewichtsbereich abzudecken, werden endfunktionalisierte PBLG-Arme nach beiden Mechanismen, der amin-initiierten sowie der Nickel-initiierten NCA Polymerisation, synthetisiert. Die resultierenden Sternpolymere aus der Kupplungsreaktion sollen anhand des erwarteten Molekulargewichts zum eingestellten Molekulargewicht mittels GPC-MALLS charakterisiert werden. Für eine vollständige Umsetzung zu Sternpolymeren ist ein hoher Funktionalisierungsgrad von PBLG die Voraussetzung. Zudem spielt die zunehmende sterische Hinderung mit steigender Kettenlänge eine große Rolle.

### 5.1 „*coupling-onto*“ Ansatz

Für die Synthese von perfekten Sternpolypeptiden mit einer genau definierten Anzahl an Armen wird die „*coupling-onto*“ Strategie eingesetzt. In dieser Variante werden eng verteilte lineare Polymere synthetisiert, die über reaktive Endgruppen an den multifunktionellen Kern gekuppelt werden. Die großen Vorteile dieses Ansatzes sind die Kontrolle über die Anzahl der Arme sowie die Möglichkeit die Arme vor der Verknüpfungsreaktion charakterisieren zu können (s. Kapitel 3.3.1). Ein bekannter Nachteil der Kupplungsreaktion ist die lange Reaktionszeit. Beispielsweise synthetisierten ALIFERIS et al.<sup>[49]</sup> wohldefinierte 3-Arm Stern-

---

<sup>D</sup> In dieser Arbeit werden die Verbindungen mit Alkin mit dem Trivialnamen Propargyl verwendet.

Polypeptide mit einer Reaktionszeit von 4 Wochen. Als Kupplungsstrategie wurde eine Reaktion aus Triisocyanat-Verbindungen und amin-endfunktionalisierten PBLG-Armen eingesetzt. In dieser Arbeit soll eine weitaus effektivere Kupplungsreaktion, die Cu(I)-katalysierte Azid-Alkin Cycloaddition (CuAAC) „Click“-Reaktion verwendet werden. Die „Click“-Reaktion wurde aufgrund der hohen Effektivität, der Toleranz gegenüber vielen funktionellen Gruppen, der milden Reaktionsbedingungen und der schnellen Reaktionsgeschwindigkeit gewählt. Zudem verlaufen „Click“-Reaktionen sehr schnell und erreichen komplette Umsätze bereits nach einer Reaktionszeit von wenigen Stunden.<sup>[200]</sup> Die Strategie der „Click-Chemie“ wurde schon erfolgreich für die Synthese von PBLG-haltigen Miktoarmsternen<sup>[117]</sup> sowie PBLG-haltigen Sternblockcopolymeren<sup>[48]</sup> eingesetzt. Komplette Umsätze wurden nach 20 h bzw. 24 h erreicht. Die effektive Kupplungsreaktion für die Herstellung von sternförmigen PBLG-Homopolymeren ist in der Literatur hingegen kaum beschrieben und soll daher in dieser Arbeit vorgestellt werden.

Um sternförmige PBLGs herstellen zu können, sind drei multifunktionelle Verknüpfungsreagenzien mit unterschiedlicher Anzahl an funktionellen Azid-Gruppen entwickelt worden. Als multifunktionelle Initiatoren mit dendritischer Struktur haben HEISE et al.<sup>[201]</sup> 2-arm, 4-arm und 6-arm Initiatoren mit entsprechender Anzahl an Bromid- bzw. Chlorid-Endgruppen für die ATRP entwickelt, welche auch in den Arbeiten von SCHNITTER et al.<sup>[202, 203]</sup> eingesetzt wurden. Diese Initiatoren wurden auch hier verwendet, aber für den Einsatz in die „Click“-Reaktion als multifunktionelle Verknüpfungsreagenzien noch weiter modifiziert. Die Synthese der dendritischen Initiatoren erfolgte analog nach der Vorschrift von SCHNITTER.<sup>[202]</sup> Ausgehend vom 2-arm, 4-arm und 6-arm Initiator mit entsprechender Anzahl an Chlorid-Endgruppen wurde im letzten Syntheseschritt in einer nucleophilen Substitutionsreaktion das Halogenid mit  $\text{NaN}_3$  durch eine Azidgruppe ausgetauscht (s. Abbildung 5.1). Die Substitutionsreaktion wurde in DMF bei Raumtemperatur für 24 Stunden durchgeführt. Das Rohprodukt wurde im nächsten Syntheseschritt mit  $\text{H}_2\text{O}$  versetzt und mehrmals mit Chloroform extrahiert. Nach der Entfernung des Lösungsmittels wurde eine hochviskose Flüssigkeit erhalten. Die Sternreagenzien **27b**, **28b** und **29b** konnten in hohen Ausbeuten erhalten werden und wurden mittels  $^1\text{H}$ -NMR sowie Elementaranalyse (EA) charakterisiert.



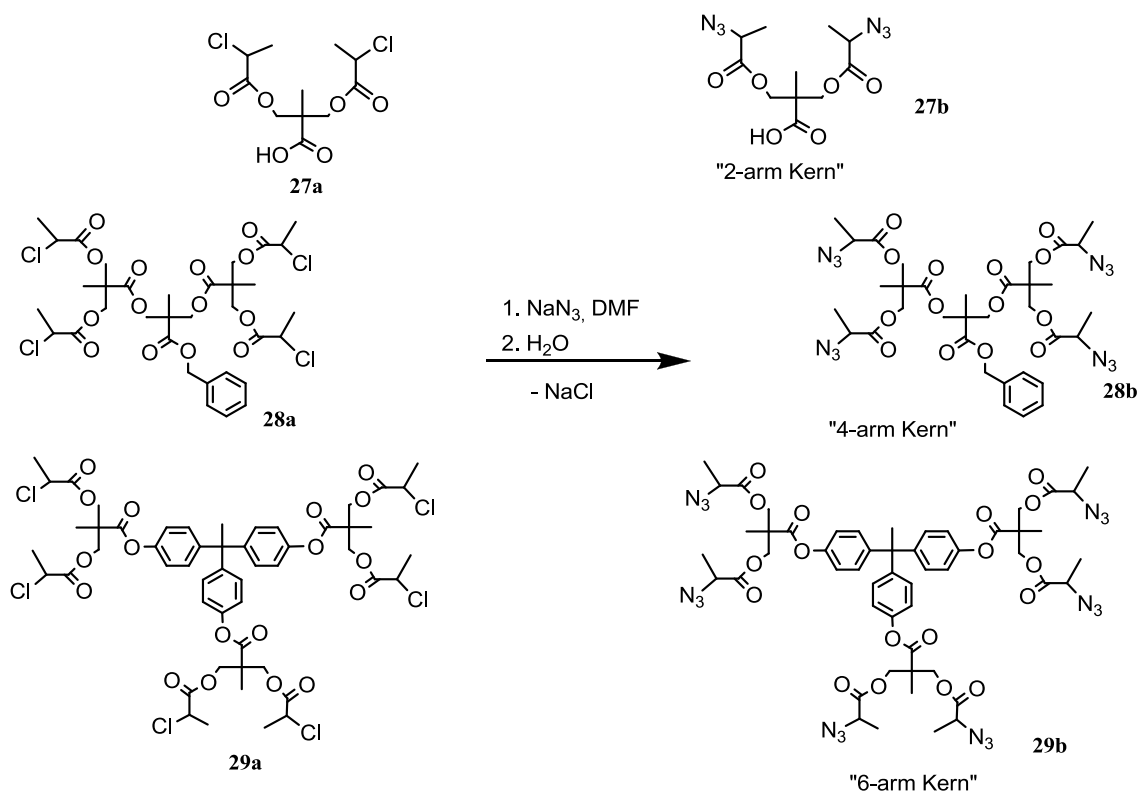


Abbildung 5.1: Letzter Syntheseschritt zur Darstellung des 2-arm (**27b**), 4-arm (**28b**) bzw. 6-arm (**29b**) Kerns.

Als Arme werden propargyl-endfunktionalisierte PBLGs für die „Click“-Reaktion eingesetzt. Die PBLG-Makromonomere wurden einerseits mit der amin-initiierten NCA Polymerisation in einem Molekulargewichtsbereich von 3400 g/mol bis 11500 g/mol und einer Polydispersität von 1,02 bis 1,19 hergestellt (Kapitel 4.1.2 Tabelle 4.3, S. 66). Für eine erfolgreiche „Click“-Reaktion ist das Vorhandensein der Propargyl-Endgruppe eine wichtige Voraussetzung. Die Endfunktion konnte mittels MALDI-ToF Messungen bestätigt werden (s. Abbildung 4.13, S. 72). Andererseits wurden auch propargyl-endfunktionalisierte PBLG-Makromonomere nach dem Nickel-initiierten Mechanismus hergestellt. Hierbei konnten PBLGs mit hohen Molekulargewichten von 18000 bis 37000 g/mol und einer Polydispersität von 1,27 bis 1,47 erhalten werden (Kapitel 4.1.1, Tabelle 4.2, S. 61). Ein Nachweis der Endgruppen kann mittels  $^1\text{H}$ -NMR Spektroskopie oder MALDI-ToF nicht erfolgen, da die Molekulargewichte zu groß sind.

Da im Allgemeinen Reaktionen mit PBLG aufgrund der guten Löslichkeit des Polymers in DMF durchgeführt werden, wird als geeignetes Katalysatorsystem für die Cu(I)-katalysierte Azid-Alkin Cycloaddition (CuAAC) das Cu(I)Br Salz und PMDETA als stark Kupfer komplexierender Ligand verwendet.<sup>[16]</sup> Das Katalysatorsystem wurde bereits ausführlich



Im Anschluss an die Kupplungsreaktion muss nicht reagiertes PBLG abgetrennt werden. Ein einfacher Ansatz für die Entfernung von propargyl-funktionalisiertem Homopolymer ist der Einsatz eines azid-funktionalisierten MERRIFIELD-Harzes. Die Azidgruppen des Harzes reagieren nach dem „Click“ Mechanismus durch den in der Polymerisationslösung vorhandenen Katalysator mit dem unreaktierten Homopolymer. Das kommerziell erhältliche MERRIFIELD Harz (vernetztes Chloromethyl-Polystyrol) wurde in einer einfachen Synthese mit Azidgruppen durch eine nucleophile Substitutionsreaktion mit  $\text{NaN}_3$  modifiziert.<sup>[116, 205]</sup> Nach einer Reaktionszeit von 24 h wurde ein molarer Überschuss des MERRIFIELD Harzes zugegeben und bei erhöhter Temperatur von 60 °C für weitere 6 h gerührt. Das Harz sowie der Katalysator wurden anschließend über eine Alox-Säule abgetrennt. Das Filtrat wurde unter Vakuum eingengt und in eisgekühltem Diethylether ausgefällt. Die gewonnenen Polymerproben waren meist weiß bis leicht blau-grün. Die Färbung deutet darauf hin, dass noch Spuren von CuBr im Polymer eingeschlossen sind. Die Ergebnisse der ermittelten Molekulargewichte und der Polydispersitäten der Sternpolypeptide aus den CuAAC Reaktionen sind in der Tabelle 5.1 zusammengefasst.

Tabelle 5.1: Ergebnisse der sternförmigen PBLGs hergestellt über die CuAAC unter Verwendung der Sternreagenzien **27b**, **28b** und **29b** und anschließender Behandlung mit MERRIFIELD Harz.

Ansatz	Sternreagenz	PBLG-Arm	Sternpolymer		GPC-Chromatogramm
		$M_n$ [g/mol]	$M_n(\text{GPC})$	PD	
PBLG-Stern-1	<b>27b</b> (2-arm Kern)	3400	8000	1,10	monomodal
PBLG-Stern-2	<b>28b</b> (4-arm Kern)		19000	1,26	monomodal
PBLG-Stern-3	<b>29b</b> (6-arm Kern)		21000	1,11	monomodal
PBLG-Stern-4	<b>27b</b> (2-arm Kern)	4400	9000	1,16	monomodal
PBLG-Stern-5	<b>28b</b> (4-arm Kern)		14000	1,25	monomodal
PBLG-Stern-6	<b>29b</b> (6-arm Kern)		27000	1,34	monomodal
PBLG-Stern-7	<b>27b</b> (2-arm Kern)	5000	10000	1,07	monomodal
PBLG-Stern-8	<b>28b</b> (4-arm Kern)		21000	1,09	monomodal
PBLG-Stern-9	<b>29b</b> (6-arm Kern)		25000	1,56	Schulter
PBLG-Stern-10	<b>27b</b> (2-arm Kern)	6100	11000	1,12	monomodal
PBLG-Stern-11	<b>28b</b> (4-arm Kern)		21000	1,11	Schulter
PBLG-Stern-12	<b>29b</b> (6-arm Kern)		26000	1,30	Schulter
PBLG-Stern-13	<b>27b</b> (2-arm Kern)	7900	14000	1,16	monomodal
PBLG-Stern-14	<b>28b</b> (4-arm Kern)		25000	1,18	monomodal
PBLG-Stern-15	<b>29b</b> (6-arm Kern)		32000	1,36	Schulter

Ansatz	Sternreagenz	PBLG-Arm $M_n$ [g/mol]	Sternpolymer		GPC- Chromatogramm
			$M_{n(GPC)}$	PD	
PBLG-Stern- <b>16</b>	<b>27b</b> (2-arm Kern)	11500	20000	1,14	Schulter
PBLG-Stern- <b>17</b>	<b>28b</b> (4-arm Kern)		29000	1,18	Schulter
PBLG-Stern- <b>18</b>	<b>29b</b> (6-arm Kern)		31000	1,39	Schulter
PBLG-Stern- <b>19</b>	<b>27b</b> (2-arm Kern)	21000	25000	1,34	monomodal
PBLG-Stern- <b>20</b>	<b>28b</b> (4-arm Kern)	18000	17000	1,20	monomodal
PBLG-Stern- <b>21</b>	<b>29b</b> (6-arm Kern)	21000	29000	1,26	monomodal

Die Daten umfassen die durchgeführten Cu(I)-katalysierten „Click“-Reaktionen zwischen endfunktionalisierten PBLG-Armen und den Sternreagenzien **27b**, **28b** und **29b**. Für die Untersuchung der Kupplungseffektivität wurden PBLG-Arme mit variierender Kettenlänge eingesetzt. Zum einen wurden PBLG-Arme mit kleinen Molekulargewichten von 3400 bis 11500 g/mol mit der amin-initiierten NCA Polymerisation und zum anderen wurden hochmolekulargewichtige PBLG-Arme mit Molekulargewichten von 18000 bzw. 21000 g/mol resultierend aus der Nickel-initiierten NCA Polymerisation (Reaktion PBLG-Stern-**19** bis PBLG-Stern-**21**)<sup>E</sup> hergestellt. PBLG-Arme mit den kleinsten Molekulargewichten von 3400 g/mol und 4400 g/mol erreichen zur Herstellung der 2-arm, 4-arm und 6-arm PBLG-Sterne (Reaktion PBLG-Stern-**1** bis PBLG-Stern-**6**) einen vollständigen Kupplungsgrad. Die ermittelten Molekulargewichte  $M_{n(GPC)}$  zeigen eine komplette Kupplung der zur Verfügung stehenden Azidgruppen der Sternreagenzien. Beispielsweise wird für die Darstellung eines 6-arm PBLG-Sterns mit PBLG-Arm von 3400 g/mol oder 4400 g/mol ein Molekulargewicht von 21000 g/mol bzw. 27000 g/mol erreicht. In Abbildung 5.3 sind die Chromatogramme der 2-arm, 4-arm und 6-arm Sternpolypeptide im Vergleich zum eingesetzten PBLG-Arm mit 4400 g/mol dargestellt. Mit steigender Anzahl an Armen kann eine Zunahme des Molekulargewichtes beobachtet werden. Die Ergebnisse stimmen mit den gewonnenen Daten aus der GPC-MALLS Analytik (Tabelle 5.1) überein. Die Chromatogramme mit RI-Detektion verlaufen monomodal und zeigen keine Verunreinigung durch Homopolymer. Die Abtrennung des Überschusses an Homopolymer mit dem azid-funktionalisiertem MERRIFIELD-Harz war in diesen Reaktionen erfolgreich. Auch weisen die niedrigen Polydispersitäten (PD) von 1,10 bis 1,34 auf die Herstellung von wohldefinierten PBLG-Sternen hin.

<sup>E</sup> Die „Click“-Reaktionen der Reaktionen **19** bis **21** sowie die Synthese der PBLGs nach dem Nickel-katalysierten Mechanismus wurden im Rahmen eines Forschungspraktikums von Alexander Linde durchgeführt.

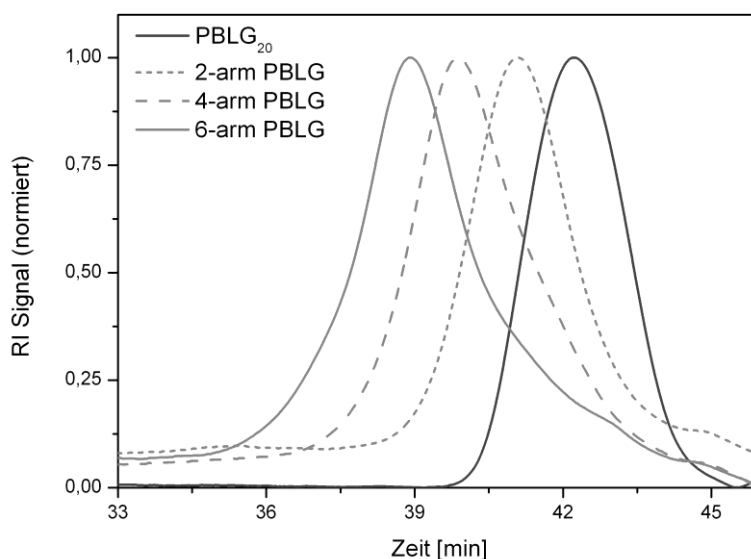


Abbildung 5.3: GPC-Kurven der 2-arm, 4-arm und 6-arm PBLG-Sterne mit PBLG-Arm von 4400 g/mol.

Monomodale Verteilungen resultieren ebenfalls aus den „Click“-Reaktionen mit einem 2-arm-Kern als multifunktionelles Verknüpfungsreagenz und PBLG-Arme mit Molekulargewichten von 5000, 6100 und 7900 g/mol. Hingegen zeigen teilweise die Chromatogramme mit RI-Detektion für die Sternpolymere aus den „Click“-Reaktionen mit einem 4-arm bzw. 6-arm-Kern eine Schulter im niedermolekularen Bereich. Dies lässt vermuten, dass die Sternpolymere durch Homopolymer verunreinigt sind. Die Abtrennung von Homopolymer mit dem azid-funktionalisiertem MERRIFIELD-Harz war in diesen Reaktionen also nicht erfolgreich. Ein möglicher Grund könnte sein, dass nicht funktionalisiertes PBLG vorhanden ist und daher keine „Click“-Reaktionen mit dem azid-funktionalisiertem MERRIFIELD-Harz stattfinden können. Andererseits besteht die Möglichkeit der Bildung von 1-arm-Sternen, die ebenfalls mit dieser Reinigungsmethode nicht entfernt werden können. Außerdem könnten auch sterische Effekte eine wichtige Rolle spielen, so dass mit zunehmendem Molekulargewicht der PBLG-Arme die „Click“-Reaktionen unwahrscheinlicher werden.

Ob neben PBLG-Homopolymer auch PBLG-Sternpolymer mit einer unvollständigen oder vollständigen Anzahl an Armen vorhanden ist, kann allein aus den Ergebnissen nicht erschlossen werden. Aus dem Lichtstreuendetektor (LS-Detektor) resultiert das absolute Molekulargewicht der Probe und der Brechungsindexdetektor (RI-Detektor) bestimmt die

Probenkonzentration an jedem Punkt der Verteilung. Wenn sich aber die Peaks von PBLG-Arm und PBLG-Stern im Chromatogramm überlagern, wird das Molekulargewicht der Probe unterbestimmt. Um Aussagen über die absoluten Molekulargewichte der PBLG-Sterne machen zu können, muss also zunächst das Homopolymer vollständig abgetrennt werden. Für die Befreiung des Sternproduktes von Homopolymer müssen weitere Untersuchungen mit anderen Reinigungsmethoden erfolgen.

In Abbildung 5.4 sind exemplarisch die GPC-Chromatogramme mit dem RI-Signal der PBLG-Sterne mit einem PBLG-Arm von 11500 g/mol dargestellt. Die 4-arm und 6-arm Sternpolypeptide mit einem PBLG-Arm von 11500 g/mol (Reaktion **17** und **18**) weisen ein ähnliches Molekulargewicht von 29000 bzw. 31000 g/mol auf, d.h. beide Sternpolymere enthalten etwa drei Arme. Die Chromatogramme unterscheiden sich aber in den Elutionszeiten und sollten daher unterschiedliche Molekulargewichte aufweisen. Es ist deutlich zu sehen, dass der Anteil an Homopolymer im 6-arm PBLG-Stern wesentlich höher ist. Anhand dieses Beispiels wird klar, wie wichtig es ist, das Homopolymer vollständig zu entfernen, um Aussagen über die tatsächlichen Molekulargewichte der Sternpolymere treffen zu können.

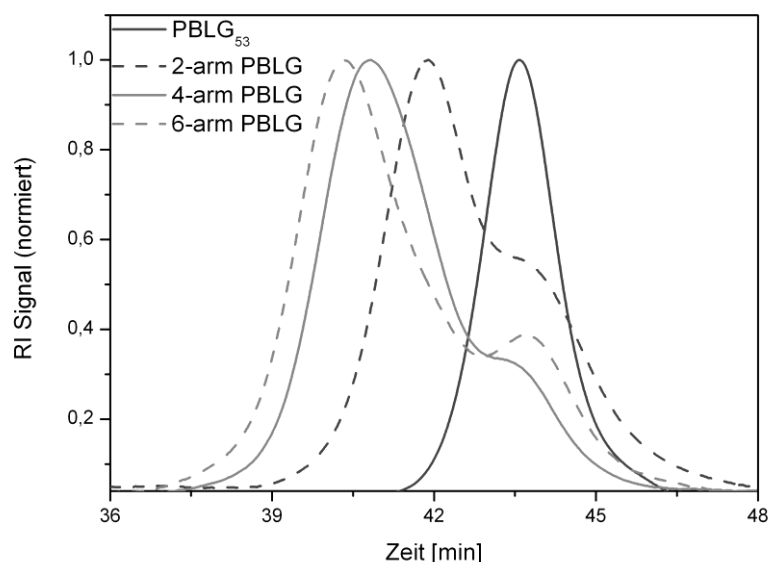


Abbildung 5.4: GPC-Kurven der 2-arm, 4-arm und 6-arm PBLG-Sterne mit PBLG-Arm von 11500 g/mol ( $P_n = 53$ ).

In den „Click“-Reaktionen der PBLG-Sterne **19** bis **21** wurden die mit der Nickel-initiierten NCA Polymerisation hergestellten PBLG-Arme mit einem Molekulargewicht von 18000 bzw.

21000 g/mol eingesetzt. In diesen Reaktionen konnten keine PBLG-Sterne erhalten werden. Die Chromatogramme der erhaltenen Polymere aus den „Click“-Reaktionen weisen das gleiche hydrodynamische Volumen wie der eingesetzte PBLG-Arm auf. Höchstwahrscheinlich sind diese PBLG-Ketten schon zu lang, wodurch die sterischen Effekte zunehmen und keine „Click“-Reaktionen mehr stattfinden können. Die Ergebnisse der durchgeführten „Click“-Reaktionen zeigen deutlich, dass es einen Einfluss des Molekulargewichtes auf die Effektivität der Kupplungsreaktion gibt. GAO und MATYJASZEWSKI untersuchten den Einfluss des Molekulargewichtes des Polymer-Arms auf die Kupplungseffektivität.<sup>[206]</sup> Es wurde festgestellt, dass mit zunehmendem Molekulargewicht des eingesetzten Polymer-Arms die Kupplungseffektivität abnimmt. Eine mögliche Ursache für die Abnahme der Kupplungseffektivität wurde mit der geringen Konzentration der Kettenendfunktionalität des Polymer-Arms begründet, welche dann zu einer ungenauen Einstellung des stöchiometrischen Gleichgewichts zwischen Azid- und Propargylgruppen führt. Zudem wurde auch der Einfluss der Armlänge auf das resultierende Sternprodukt mit der „Arm-first“-Strategie untersucht.<sup>[207]</sup> Die Ergebnisse zeigen, dass eine zunehmende Länge des Arms zu Sternpolymeren mit einer geringeren Anzahl an Armen, einer niedrigeren Ausbeute des Sternprodukts sowie zu insgesamt kleineren Molekulargewichten führt.

Um genaue Aussagen über den tatsächlichen Kupplungsgrads der hergestellten PBLG-Sterne treffen zu können, muss zunächst das Homopolymer vollständig entfernt werden. Die Abtrennung von Homopolymer mithilfe des azid-funktionalisierten MERRIFIELD-Harzes war nicht bei allen Reaktionen erfolgreich. Daher wurden weitere Methoden eingesetzt, um die PBLG-Sterne von Verunreinigungen durch Homopolymer zu befreien.

### 5.1.1 Methoden zur Abtrennung von Homopolymer

Für eine quantitative Kupplung von PBLG-Armen an multifunktionelle Sternreagenzien wurde ein kleiner Überschuss an linearem Polymer verwendet, der im Anschluss wieder entfernt werden muss. Es gibt viele verschiedene Methoden, um Polymere zu reinigen. Häufig werden die Fraktionierung<sup>[208]</sup>, Dialyse<sup>[161]</sup>, präparative GPC<sup>[209]</sup>, funktionalisiertes Harz als Scavenger<sup>[116, 117]</sup> oder das Aussalzen<sup>[49]</sup> als Reinigungsverfahren von Polymeren in der Literatur beschrieben. Reinigung durch Fraktionierung benötigt größere Mengen an Polymer,

da die fraktionierte Arbeitsweise (Extraktion, Ausfällen) mehrfach wiederholt werden muss und daher geringe Ausbeuten garantiert sind. Die präparative GPC ist meist an lange Analysezeiten, geringe Selektivität und Trennwirksamkeit beim Isolieren des Polymers gebunden. Zudem müssen erst die geeigneten Messparameter gefunden werden, was häufig sehr zeitaufwändig ist.

In dieser Arbeit wurden zum Abtrennen von PBLG Homopolymer verschiedene Methoden verwendet, um die effektivste Technik für die Isolierung reiner PBLG-Sterne zu bestimmen. Als Methoden wurden die Verwendung eines funktionalisierten Harzes, das Aussalzen und die Dialyse eingesetzt. Die erste Methode, Reinigung durch „Click“-Reaktion mit einem funktionalisierten Harz (MERRIFIELD), wurde bereits im vorherigen Kapitel 5.1 beschrieben. Das Harz enthält komplementäre „Click“ Funktionalitäten und sollte theoretisch das unreaktierte PBLG-Homopolymer relativ einfach abtrennen. Alle durchgeführten „Click“-Reaktionen wurden mit dem MERRIFIELD-Harz behandelt (s. Tabelle 5.1). Die Methode erwies sich bei der Abtrennung des linearen PBLG als mäßig. Es konnte beobachtet werden, dass mit zunehmender Kettenlänge des PBLG-Arms und mit steigender Anzahl an Armen aufgrund der abnehmenden Kupplungseffizienz die Menge des unreaktierten linearen Polymers zunahm. Ein Vergleich soll zeigen, wie effektiv die Behandlung mit dem MERRIFIELD-Harz bei längeren PBLG-Armen ist. In Abbildung 5.5 sind exemplarisch die Chromatogramme der 4-arm (PBLG-Stern-**14**, s. Tabelle 5.1) und 6-arm PBLG-Sterne (PBLG-Stern-**15**, s. Tabelle 5.1) vor der Behandlung mit dem funktionalisierten Harz sowie nach der Reinigung zu sehen. Die PBLG-Arme der beiden Sternpolymere weisen ein Molekulargewicht von 7900 g/mol auf.



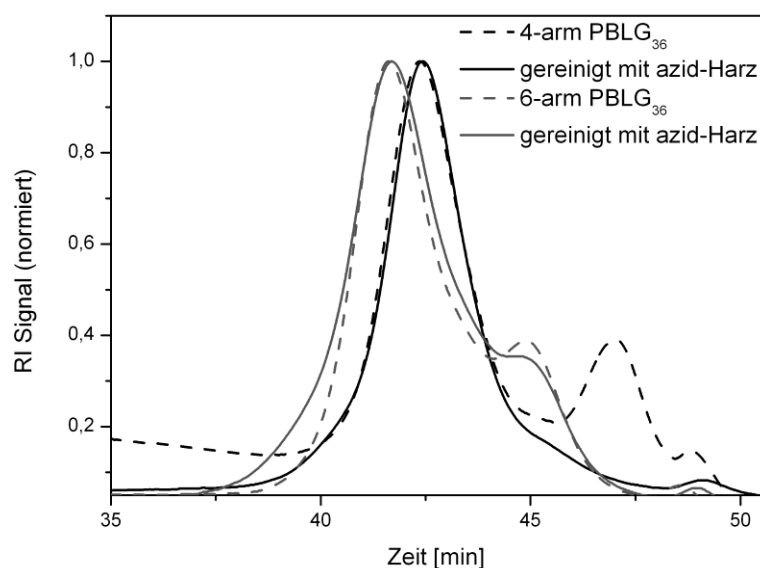


Abbildung 5.5: GPC-Chromatogramme der 4-arm und 6-arm PBLG-Sterne mit PBLG-Arm von 7900 g/mol (PBLG-Stern-14 und PBLG-Stern-15) aufgereinigt mit dem azid-funktionalisierten MERRIFIELD Harz.

Es ist deutlich zu erkennen, dass das Homopolymer durch die Reaktion mit dem azid-funktionalisierten Harz fast vollständig entfernt werden kann. Die Molekulargewichtsverteilung im Chromatogramm des 4-arm PBLG-Sterns ist nahezu monomodal und zeigt eine sehr kleine Schulter im niedermolekularen Bereich. Das Homopolymer konnte in diesem Fall fast vollständig entfernt werden. Bei Betrachtung des GPC-Chromatogramms des 6-arm PBLG-Sterns wird hingegen nur eine leichte Reduktion der Verunreinigung von linearem Polymer beobachtet. Die Vermutung liegt nahe, dass es sich um Homopolymer mit inaktiven Endgruppen handeln könnte. In diesem Fall können die PBLG-Arme nicht über die Propargyl-Endfunktion mit dem funktionalisierten Harz reagieren. In beiden Reaktionen wurde aber dasselbe PBLG als Arm mit 7900 g/mol eingesetzt und da erst in der Aufreinigung unterschiedliche Ergebnisse resultieren, ist das Vorhandensein von nicht funktionalisiertem PBLG unwahrscheinlich. Andererseits könnte die katalytische Aktivität des Kupfer-Katalysators verloren gegangen sein. Polypeptide haben die Fähigkeit durch ihr Polyamid-Rückgrat als mehrzählige Liganden, Cu-Ionen zu komplexieren.<sup>[210, 211]</sup> Das kann dazu führen, dass die katalytische Aktivität des Kupfer-Komplexes reduziert wird und infolgedessen keine weiteren „Click“-Reaktionen mit dem funktionalisierten MERRIFIELD Harz mehr katalysiert werden können. Die blau-grüne Färbung der isolierten Polymere lässt vermuten, dass eine Komplexbildung der Amidgruppe des PBLG-Rückgrats stattgefunden hat.

Als zweite Methode zur Isolierung reiner Sternpolymere wurde das „Salting-Out“-Verfahren (Aussalzen) untersucht. Die Reinigungsmethode wird häufig in der Biochemie genutzt und gilt als eine der effektivsten Methoden für die Trennung von Proteinen nach unterschiedlichen Molekulargewichten.<sup>[212]</sup> ALIFERIS et al. nutzten das Verfahren, um hochmolekulargewichtige lineare Polypeptide mit einem Molekulargewicht von 27100 oder 28300 g/mol von 3-arm Sternpolypeptiden zu trennen.<sup>[139]</sup> Dabei wird das Rohprodukt in DMF gelöst und LiBr als Salz zugesetzt. Durch die Zugabe des Salzes ändert sich die Hydrophilie der Lösung. Bei einer hohen Ionenkonzentration stehen nicht mehr genügend Solvenzmoleküle zur Solvatisierung der Polypeptide zur Verfügung. Die hydrophoben Wechselwirkungen zwischen den Polypeptiden werden dadurch verstärkt, dies führt zur Fällung. Für hydrophobe Polypeptide wird die Umgebung ärmer, d.h. hochmolekulare Polymere fallen als erstes aus. Zur Trennung der PBLG-Arme von den PBLG-Sternen wird nach der Vorschrift von ALIFERIS<sup>[49]</sup> gearbeitet. Nach der Prozedur wird zunächst das Rohprodukt in DMF gelöst und eine 5 %ige Lösung (w/v) hergestellt. Anschließend wird solange eine kleine Menge Salz sukzessiv zugegeben, bis eine Trübung beobachtet wird. Der Niederschlag wird filtriert oder abzentrifugiert, in DMF gelöst und wieder ausgefällt. In Abbildung 5.6 sind nach Anwendung des Reinigungsverfahrens die Elutionskurven des 6-arm PBLG-Sterns, bestehend aus PBLG-Armen mit einem Molekulargewicht von 7900 g/mol, vor und nach dem Aussalzen dargestellt.

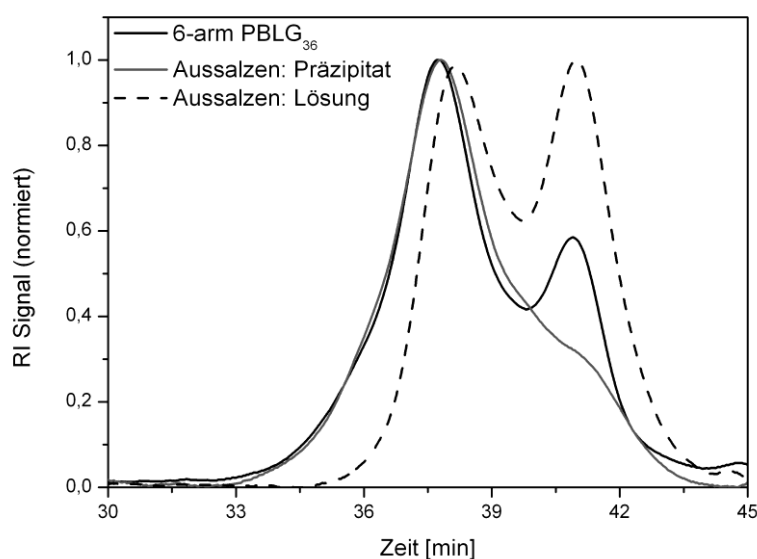


Abbildung 5.6: GPC-Chromatogramme des 6-arm PBLG-Sterns mit PBLG-Arm von 7900 g/mol ( $P_n = 36$ ) vor und nach dem Aussalzen.

Im Vergleich zum PBLG-Stern Rohprodukt weist das Chromatogramm des isolierten Präzipitats eine deutliche Reduzierung der Verunreinigung durch lineares Homopolymer auf. Das Chromatogramm zeigt aber noch eine kleine Schulter, die auf restliches Homopolymer schließen lässt. Das ermittelte Molekulargewicht des 6-arm PBLG-Sterns beträgt 42000 g/mol mit einer Polydispersität von 1,33. Auf die tatsächliche Anzahl der PBLG-Arme kann aufgrund der Verunreinigung durch Homopolymer nicht direkt geschlossen werden, aber das hohe Molekulargewicht lässt einen PBLG-Stern mit etwa 5 bis 6 Armen vermuten. Das isolierte Polymer aus der Lösung weist eine bimodale Verteilung auf. Hier wird quantitativ gleich viel Sternpolymer wie auch PBLG-Arm mit dem RI-Detektorsignal detektiert. Mit der Methodik des Aussalzens kann keine quantitative Trennung von linearem Polymer zum Sternpolymer erwartet werden. Der Prozess der Fraktionierung ist nur eine Anreicherung und muss mehrmals durchgeführt werden, was sehr aufwändig ist und zu geringen Ausbeuten führt. Daher können neben verschiedener Mischfraktionen auch die beiden „Rein“-Fraktionen (Homopolymer, Sternpolymer) enthalten sein. Wird die Salzkonzentration weiter erhöht, steigert das vermutlich die hydrophoben Wechselwirkungen. Aber da das isolierte Präzipitat noch Homopolymer enthält, würde eine weitere Zugabe an Salz infolge der Aggregation (Aussalzeffekt) auch zum Ausfällen der kleineren PBLG-Ketten führen.

Die dritte Variante, die zur Isolierung reiner PBLG-Sterne untersucht wurde, ist die Dialyse. Die Dialyse eignet sich, um Verbindungen nach ihrer Größe zu trennen (z.B. Entfernung des restlichen Monomers vom Polymer) und wird am häufigsten zur Reinigung wasserlöslicher Polymere in wässrigen Medien durchgeführt.<sup>[75, 161]</sup> Weniger bekannt ist die Anwendung der Dialyse gegen organische Lösungsmittel. Membranen, die aus Cellulose bestehen, sind in vielen organischen Lösungsmitteln beständig und finden in THF<sup>[213]</sup> oder DMSO<sup>[214]</sup> Anwendung. Da PBLG-haltige Polymere besonders gut in DMF oder THF löslich sind, wurde die Dialyse zur Isolierung reiner PBLG-Sterne in diesen Lösungsmitteln durchgeführt. Für eine erfolgreiche Abtrennung des PBLG-Homopolymers vom PBLG-Stern wurde das Rohprodukt gegen eine Mischung aus DMF/THF im Verhältnis von 1:1 für 4-5 Tage dialysiert. Die enthaltene Polymerlösung wurde unter Vakuum eingengt und anschließend in eisgekühltem Diethylether ausgefällt. Die Ergebnisse der Molekulargewichtsverteilungen sowie der Molekulargewichte der aufgereinigten PBLG-Sterne sind in Tabelle 5.2 zusammengefasst.

Tabelle 5.2: Ergebnisse nach der Aufreinigung der PBLG-Sterne mittels Dialyse gegen DMF/THF für 4-5 Tage.

Ansatz	Anzahl der Arme	PBLG-Arm $M_n$	Dialyse		GPC-Chromatogramm
			$M_{n(GPC)}$	PD	
PBLG-Stern-9	6-arm	5000	28000	1,12	monomodal
PBLG-Stern-11	4-arm	6100	23000	1,11	monomodal
PBLG-Stern-12	6-arm	6100	33000	1,13	monomodal
PBLG-Stern-16	2-arm	11500	23000	1,08	monomodal
PBLG-Stern-17	4-arm	11500	35000	1,10	monomodal
PBLG-Stern-18	6-arm	11500	43500	1,21	kl. Schulter

Es wurden mehrere PBLG-Sterne mit unterschiedlichen Kettenlängen der PBLG-Arme mittels Dialyse gereinigt. Insgesamt konnten niedrige Polydispersitäten von 1,08 bis 1,21 erhalten werden, was ein Hinweis für die Isolierung reiner Sternpolymere ist. In einem Ansatz des PBLG-Stern-18 (6-Arm PBLG-Stern mit PBLG-Arm von 11500 g/mol) wurde allerdings noch eine Schulter mit der GPC-Analytik detektiert. Es muss davon ausgegangen werden, dass in diesem Fall die Dialyse zu früh abgebrochen wurde. Die Resultate zeigen aber insgesamt, dass die Entfernung des Homopolymers mittels Dialyse sehr erfolgreich war. Die GPC-Chromatogramme weisen eine enge und monomodale Verteilung auf. In Abbildung 5.7 sind als Beispiel die Chromatogramme des 6-arm PBLG-Sterns mit einem PBLG-Arm von 6100 g/mol und des 4-arm PBLG-Sterns mit PBLG-Arm von 11500 g/mol dargestellt. Im Vergleich zum nicht aufgereinigten Sternprodukt zeigen die Elutionskurven keine Schulter der Verunreinigung durch PBLG Homopolymer.

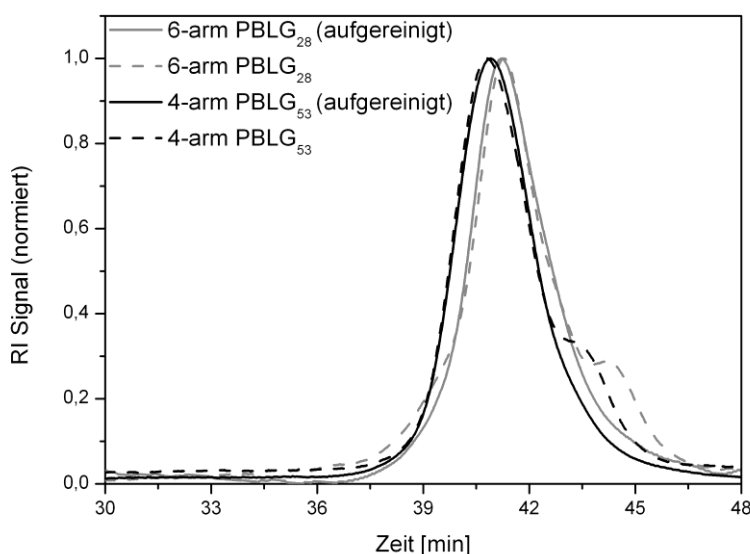


Abbildung 5.7: GPC-Chromatogramme der dialysierten PBLG-Sterne, 6-arm PBLG mit PBLG-Arm von 6100 g/mol ( $P_n = 28$ ) und 4-arm PBLG mit PBLG-Arm von 11500 g/mol ( $P_n = 53$ ), im Vergleich zum nicht aufgereinigten Sternpolymer.

Anhand der Resultate kann auch die Kupplungseffektivität der „Click“-Reaktion beurteilt werden. Aus den Ergebnissen aus Tabelle 5.2 ist der Einfluss der Kettenlänge auf die resultierenden PBLG-Sterne deutlich zu erkennen. Die ermittelten Molekulargewichte der PBLG-Sterne mit PBLG-Armen von 5000 g/mol und 6100 g/mol weisen auf die Synthese von „perfekten“ PBLG-Sternen hin. Beispielhaft zeigt das Molekulargewicht von 33000 g/mol einen PBLG-Stern mit etwa sechs PBLG-Armen von je 6100 g/mol (PBLG-Stern-12). Die gewünschte Anzahl an Armen konnte in diesen Reaktionen bestätigt werden. Die Synthese von PBLG-Sternen mit langen PBLG-Armen von 11500 g/mol resultieren in Sternpolymere mit weniger Armen. Hier konnten nach der Abtrennung des Homopolymers keine reinen 4-arm bzw. 6-arm PBLG-Sterne isoliert werden. Der Versuch, einen Stern mit vier Armen zu synthetisieren, resultierte in einen PBLG-Stern mit einem Molekulargewicht von 35000 g/mol (PBLG-Stern-20), was einer Anzahl von drei Armen entspricht. Die Synthese eines PBLG-Sterns mit gewünschten sechs Armen, resultierte hingegen nur in einen Stern mit etwa vier Armen mit einem entsprechenden Molekulargewicht von 43500 g/mol. Die Elutionskurve zeigt in dieser Reaktion noch eine kleine Schulter, die aber eine geringe Intensität aufweist. Es ist davon auszugehen, dass der Anteil an Homopolymer so gering ist, was das tatsächliche Molekulargewicht des Sternpolymers nicht wesentlich beeinflusst. Die Kupplungseffektivität nimmt folglich mit der Länge des PBLG-Arms ab. Sternpolymere mit vollständiger Anzahl an

Armen können nach der Abtrennung von Homopolymer mit einem Molekulargewicht bis zu 7900 g/mol des Arms erfolgreich hergestellt werden. Bei Verwendung von PBLG-Armen mit noch größeren Molekulargewichten ( $M_n = 11500$  g/mol) nimmt die Kupplungseffektivität ab. Mit der „Click“-Reaktion ist es nicht möglich PBLG-Sternen mit sechs Armen herzustellen.

Die Entfernung des Homopolymers wurde mit drei verschiedenen Reinigungstechniken untersucht. Die Abtrennung von linearem PBLG mittels funktionalisierten Harzes, des Aussalzens oder der Dialyse führte zur Reduktion von Homopolymer bis hin zur kompletten Entfernung. Als beste Strategie zur Isolierung reiner PBLG-Sterne kann die Dialyse beurteilt werden. Diese Technik erlaubt eine einfache Trennung der Polymere allein aufgrund der Größe.

### 5.1.2 Zusammenfassung

PBLG-Sterne mit unterschiedlicher Anzahl an Armen sowie mit variierender Kettenlänge des PBLG-Arms wurden mit der Synthesestrategie des „*coupling-onto*“-Ansatzes hergestellt. Die gewählte Strategie bietet den großen Vorteil einer einfachen Charakterisierung der resultierenden Sternpolymere durch die Molekulargewichtsbestimmung mittels GPC-MALLS Analytik. Die Anzahl an Armen im PBLG-Stern wird durch das Molekulargewicht des PBLG-Sterns berechnet. Durch die ermittelte Anzahl an Armen kann die Effektivität der Kupplungsreaktion untersucht werden. Die Resultate zeigen, dass die Kupplungseffizienz mit der Länge der PBLG-Arme und der Anzahl an Armen abnimmt. Da längere Arme sterisch anspruchsvoller sind, resultieren vermutlich aufgrund dieser sterischen Effekte Sternprodukte mit einer geringeren Anzahl an Armen. Wenn zu große PBLG-Arme ( $M_n = 18000$  und  $21000$  g/mol), wie im Fall der „Click“-Reaktionen PBLG-Stern-**19** bis PBLG-Stern-**21**, an Sternreagenzien gekuppelt werden, ist die Synthese von Sternpolymeren nicht möglich. Kürzere Arme sind hingegen weniger sterisch gehindert, was zu einer erfolgreichen Kupplung zum Sternpolymer führt. Im Anschluss der „Click“-Reaktion muss der verwendete Überschuss an Homopolymer wieder abgetrennt werden. Für die Isolierung reiner PBLG-Sterne wurden verschiedene Reinigungsmethoden untersucht. In folgender Tabelle sind die Ergebnisse der PBLG-Sterne mit der tatsächlichen Anzahl an Armen nach der verwendeten Aufreinigungsmethode zusammengefasst. Dabei erfolgte im Anschluss an die „Click“-Reaktion im 1. Schritt stets die Behandlung mit dem Merrifield-Harz und im 2. Schritt eine

weitere Aufreinigung mittels Dialyse oder Aussalzen. Eine vollständige Entfernung des Überschusses an PBLG-Homopolymer konnte durch Behandlung mit dem MERRIFIELD-Harz nur bei den „Click“-Reaktionen erreicht werden, die mit kleinen PBLG-Armen (3400 und 4400 g/mol) durchgeführt wurden. Mit der Größe des PBLG-Arms wurden effektivere Aufreinigungsmethoden, wie das Aussalzen und die Dialyse eingesetzt. Es zeigte sich, dass eine vollständige Entfernung des Homopolymers vom Sternpolymer nur mittels Dialyse möglich ist.

Tabelle 5.3: Ergebnisse der Anzahl an PBLG-Armen im PBLG-Stern nach der Aufreinigung.

PBLG-Arm $M_n$ [g/mol]	“Click”-Reaktion PBLG-Stern			Anzahl der PBLG-Arme			Aufreinigung
3400	2-arm	4-arm	6-arm	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	MERRIFIELD-Harz
4400	2-arm	4-arm	6-arm	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	MERRIFIELD-Harz
5000	2-arm	4-arm	6-arm	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	1. MERRIFIELD-Harz 2. Dialyse
6100	2-arm	4-arm	6-arm	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>6</b>	1. MERRIFIELD-Harz 2. Dialyse
7900	2-arm	4-arm	6-arm	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>5 - 6</b>	1. MERRIFIELD-Harz 2. Aussalzen
11500	2-arm	4-arm	6-arm	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	1. MERRIFIELD-Harz 2. Dialyse

## 6 Synthese von polypeptidhaltigen Stäbchen-Knäuel Blockcopolymeren

Für die Synthese von PBLG-haltigen Stäbchen-Knäuel Blockcopolymeren wird ein bifunktionseller Initiator verwendet. Um definierte Blockcopolymere herstellen zu können, ist die Anwendung von kontrollierten Polymerisationstechniken notwendig. Durch den Einsatz eines bifunktionsellen Initiators ist es möglich zwei unterschiedliche kontrollierte Polymerisationen miteinander zu kombinieren. Der Aufbau des Stäbchen-Blocks erfolgt über die Nickel-vermittelte ringöffnende Polymerisation (ROP) von BLG-NCA und der Knäuel-Block wird über die kontrolliert radikalische Polymerisationstechnik der Nitroxid-vermittelten radikalischen Polymerisation (NMP) von Vinylmonomeren wie z.B. Polystyrol (PS) und *tert*-Butylacrylat (tBA) realisiert. Die NMP ist bereits gut untersucht und wird im Allgemeinen mit Alkoxyaminen als Initiatoren durchgeführt.<sup>[169]</sup> Ein großer Vorteil der NMP ist der niedrige experimentelle Aufwand, da es sich hierbei um ein Monokomponentensystem handelt. Die Herstellung der Alkoxyamine erfolgt allerdings über mehrere Synthesestufen, da diese nicht kommerziell erhältlich sind. Mit dem Schwerpunkt auf den Untersuchungen der Kinetik der NMP von Styrol, sollen strukturell unterschiedliche Alkoxyamine eingesetzt und deren Einfluss als Initiatoren auf die Polymerisation untersucht werden. Zur Überprüfung einer kontrolliert ablaufenden Polymerisation sollen die kinetischen Messungen mit und ohne PBLG-Makroinitiator durchgeführt werden.

Im Folgenden wird die Synthese des bifunktionsellen Initiators für die Kombination der NCA Polymerisation mit der NMP vorgestellt. Die Synthese umfasst die Herstellung des Alkoxyamins mit anschließender Einführung eines Alloc-Derivats sowie die Umsetzung zum initiiierenden Komplex für die Nickel-vermittelte ROP von NCA.

### 6.1 Synthese des bifunktionsellen Initiators

Als bifunktionseller Initiator wird ein Alkoxyamin für die NMP eingesetzt, das als weitere Funktionalität eine primäre Amingruppe trägt. Diese Amingruppe wird im nächsten Schritt mit einem Alloc-Derivat umgesetzt, um die Vorstufe des bifunktionsellen Initiators zu erhalten. Im Anschluss wird die Nickel-Amido-Amidat-Gruppe für die Initiierung der NCA Polymerisation durch Reaktion mit dem Komplex aus  $\text{Ni(COD)}_2$  und einem Liganden,



1,10-Phenanthrolin (phen) oder Bipyridyl (bpy), nach der von CURTIN et al.<sup>[39]</sup> beschriebenen Methode als zweite Funktionalität eingeführt. Für eine detaillierte Synthesebeschreibung der Umsetzung zum Nickel-Initiator wird auf das Kapitel 4.1 verwiesen. Aus den Arbeiten von STEIG et al.<sup>[162]</sup> ist der bifunktionelle Initiator mit einem TIPNO<sup>F</sup> basierenden Alkoxyamin als NMP-Funktion für die Darstellung von PBLG-*b*-PS Blockcopolymeren bereits bekannt. Dieser Initiator soll auch in dieser Arbeit synthetisiert und eingesetzt werden. Da das Alkoxyamin (PhEt-TEMPO **5**) basierend auf TEMPO<sup>G</sup> in der kontrollierten Polymerisation von Styrol bereits gut untersucht ist,<sup>[169, 177]</sup> wird es hier zum Vergleich ebenfalls verwendet. Zudem ist es durch die Entwicklung von Alkoxyaminen mit sterisch anspruchsvolleren Nitroxidgruppen, wie z.B. TIPNO und BIPNO<sup>H</sup> nun möglich auch Acrylate kontrolliert polymerisieren zu können.<sup>[175, 215]</sup> Der Einfluss der drei strukturell unterschiedlichen Nitroxide TEMPO, TIPNO und BIPNO als entsprechende Alkoxyamine auf die Kinetik der NMP von Styrol wurde bereits untersucht. In der kontrollierten Polymerisation von Styrol konnte eine Zunahme der Polymerisationsgeschwindigkeit von PhEt-TEMPO **5** < PhEt-TIPNO **6** < PhEt-BIPNO **7** festgestellt werden.<sup>[216]</sup> Die bereits gut untersuchten Alkoxyaminderivate basierend auf TEMPO, TIPNO und BIPNO in der kontrollierten Polymerisation von Styrol werden in dieser Arbeit modifiziert eingesetzt. In Abbildung 6.1 sind die neu entwickelten bifunktionellen Initiatoren dargestellt, welche sich in der Funktionalität für die NMP unterscheiden.

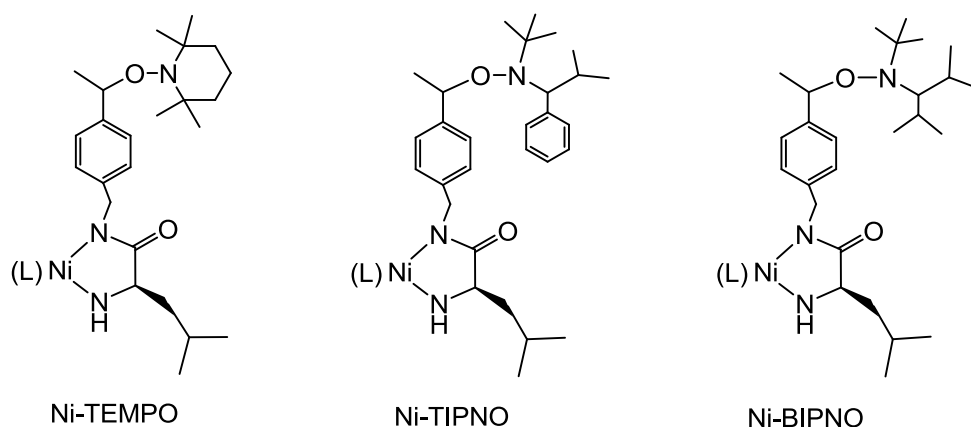


Abbildung 6.1: Bifunktionelle Initiatoren mit einer TEMPO, TIPNO oder BIPNO Gruppe als entsprechendes Alkoxyamin für die Kombination der NCA Polymerisation und der NMP.

<sup>F</sup> 2,2,5-Trimethyl-4-phenyl-3-azahexan-3-oxyl (TIPNO)

<sup>G</sup> 2,2,6,6-Tetramethyl-piperidin-1-oxyl (TEMPO)

<sup>H</sup> 2,2,5-Trimethyl-4-(isopropyl)-3-azahexane-3-oxyl (BIPNO)

Der kontrollierte Charakter der NMP soll in Kinetik-Messungen überprüft werden. Zudem wird der Einfluss des Nitroxids auf die NMP durch die Verwendung der strukturell unterschiedlichen Nitroxide TEMPO, BIPNO und TIPNO im bifunktionellen Initiator untersucht.

### 6.1.1 Synthese des Alkoxyamins

Die Darstellung des Alkoxyamins erfolgt durch die Umsetzung eines stabilen Nitroxid-Radikals mit einem Vinylbenzylderivat nach der Methode von DAO et al.<sup>[173]</sup> TEMPO **1** ist als stabiles Nitroxid kommerziell erhältlich, die beiden Nitroxide TIPNO **3** und BIPNO **4** müssen hingegen über eine mehrstufige Synthese hergestellt werden. Die Struktur von BIPNO **4** ähnelt der von TIPNO **3** und wird analog nach der beschriebenen Methode von BENOIT et al. synthetisiert.<sup>[215]</sup> Zunächst wird durch eine reduktive Kondensationsreaktion des 2-Methyl-2-Nitropropans mit der gewünschten Aldehyd-Verbindung das Hydroxylamin mit einer hohen Ausbeute von 72 % (Literatur 84 %<sup>[215]</sup>) hergestellt. Im nächsten Schritt erfolgt durch Zugabe eines Grignard-Reagenzes, gefolgt von einer Kupfer(II)-katalysierten Oxidation, die Bildung des gewünschten Nitroxids. Für die Darstellung von BIPNO **4** wird anstelle eines Phenylmagnesiumbromids das Isopropylmagnesiumbromid eingesetzt.<sup>[175]</sup> Im Anschluss werden die Nitroxide säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt und als orangefarbene Flüssigkeiten erhalten, die bei tiefen Temperaturen von -30 °C auskristallisieren. Die letzte Synthesestufe zur Bildung des Nitroxids **3**<sup>I</sup> konnte mit einer Ausbeute von 32 % (Literatur 71 %<sup>[215]</sup>) und des Nitroxids **4** mit einer Ausbeute von 40 % (Literatur 37 %<sup>[175]</sup>) erhalten werden. In Abbildung 6.2 ist der Syntheseweg am Beispiel des Nitroxids BIPNO **4** dargestellt.

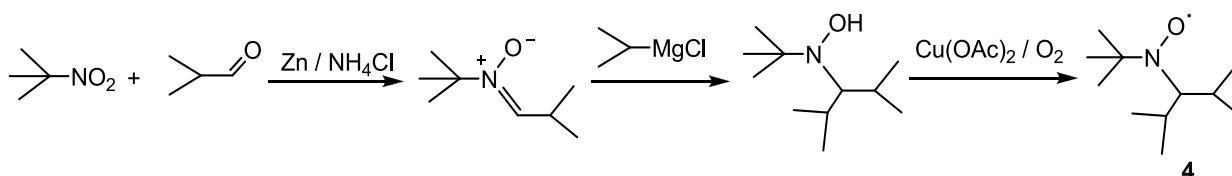


Abbildung 6.2: Syntheseweg zur Darstellung von BIPNO **4** nach der Vorschrift von FLAKUS et al.<sup>[175]</sup>

Für die Umsetzung zum Alkoxyamin wird nach der Vorschrift von DAO et al.<sup>[173]</sup> gearbeitet. Ausgehend von *p*-Vinylbenzylchlorid (VBC) und dem Nitroxid wird zunächst über eine Reaktion mit dem Jacobsen-Katalysator, einem  $\text{Mn}(\text{Salen})\text{Cl}$ -Komplex, das Alkoxyamin **30**

<sup>I</sup> Das Nitroxid TIPNO wurde im Rahmen eines Forschungspraktikums von Sebastian Scheeler hergestellt.

hergestellt. Die Chlorfunktionalität des Alkoxyamins **30** wird anschließend über das Azid **31** und dessen Reduktion mit  $\text{LiAlH}_4$  in eine Amingruppe **32** überführt. Während die Stufen **30** und **31** säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt wurden, konnte die Verbindung **32** ohne weitere Reinigung des Produktes erhalten werden (Abbildung 6.3). Die Charakterisierung der Strukturen **30** - **32** wurde mittels  $^1\text{H}$ -NMR- und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie durchgeführt.

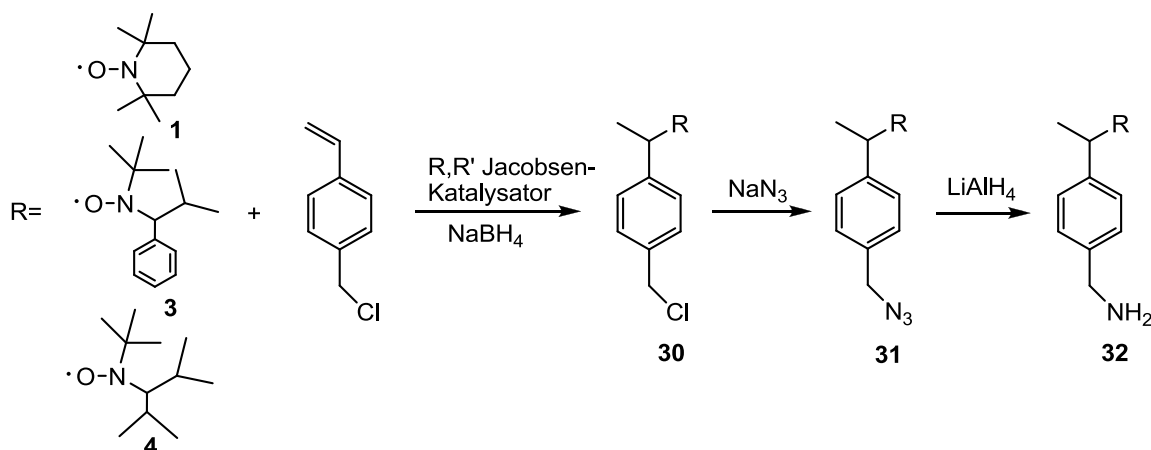


Abbildung 6.3: Darstellung des bifunktionellen Alkoxyamins **32** nach der Vorschrift von DAO et al.<sup>[173]</sup>

Das Alkoxyamin mit der Aminogruppe **32** kann direkt als bifunktioneller Initiator in der amin-initiierten NCA Polymerisation eingesetzt werden.<sup>[31]</sup> Die Arbeitsgruppe von HEISE konnte PBLG-*b*-PS Stäbchen-Knäuel Blockcopolymere mit dem Alkoxyamin basierend auf TIPNO synthetisieren.<sup>[31]</sup> Für den Einsatz in der Nickel-katalysierten NCA Polymerisation muss die Aminogruppe allerdings noch weiter umgesetzt werden.

### 6.1.2 Umsetzung zum Nickel-Initiator

Für die Darstellung des bifunktionellen Initiators **34** wird zunächst eine Alloc-Funktionalität unter Abspaltung von *N*-Hydroxysuccinimid eingeführt. Im letzten Schritt erfolgt die Umsetzung des  $\text{N}_\alpha$ -Alloc-L-leucin-aminomethyl-PhEt-Derivats **33** mit einem Nickel-Komplex zum bifunktionellen Initiator **34** mit einer Nickel-Amido-Amidat-Gruppe (Abbildung 6.4).

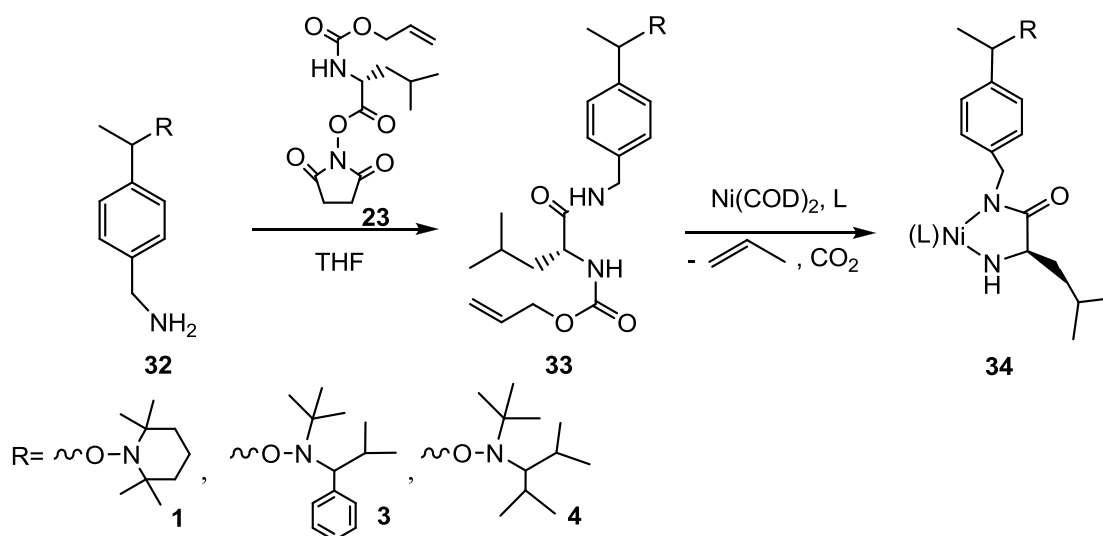


Abbildung 6.4: Synthese des bifunktionellen Initiators mit einer Nickel-Amido-Amidat und einer Alkoxyamin-Funktionalität.

Die Umsetzung des Alkoxyamins **32** mit Alloc-L-leucin-N-hydroxysuccinimidester **23** erfolgt analog zur in Kapitel 4.1 beschriebenen Methode und resultiert in der Bildung der Vorstufe **33** mit einer Alkoxyamin Funktionalität ( $R = \text{TEMPO } \mathbf{1}$ , TIPNO **3**, BIPNO **4**). Durch säulenchromatographische Reinigung konnte das Produkt **33** mit TEMPO als Nitroxid mit einer Gesamtausbeute von 44 %, mit TIPNO von 34 % und mit BIPNO<sup>J</sup> als funktionelle Gruppe von 60 % erhalten werden. Dabei beziehen sich die Gesamtausbeuten auf das bereits hergestellte Nitroxid. Die Strukturen der Vorstufen **33** konnten mittels <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie und Elementaranalyse erfolgreich nachgewiesen werden. Im letzten Schritt erfolgt die Umsetzung der Alloc-Gruppe von **33** mit Ni(COD)<sub>2</sub> und phen oder bpy als Ligand zur Nickel-Amido-Amidat-Gruppe des bifunktionellen Initiators **3** nach der Vorschrift von CURTIN et al.<sup>[39]</sup> Die Ergebnisse aus der Elementaranalyse des bifunktionellen Initiators sowie die erhaltenen Umsätze der letzten Synthesestufe sind aus der Tabelle 4.1 des Kapitels 4.1 (Seite 58) zu entnehmen. Insgesamt wurden drei Nickel-Initiatoren mit verschiedenen Alkoxyamin-Funktionalitäten für die Kombination der Nickel-initiierten NCA Polymerisation mit der NMP hergestellt. Zudem wurde bei der Synthese des bifunktionellen Initiators auch der Ligand für die Ni(BIPNO) und Ni(TIPNO) Initiatoren variiert (Vgl. Kapitel 4.1). Im IR-Spektrum (Abbildung 6.5) sind für die Nickel-Initiatoren Ni(TIPNO)-I und Ni(TEMPO) die charakteristischen Banden für Amid-I bei 1662 cm<sup>-1</sup> und der Amidat-Bindung bei 1576 cm<sup>-1</sup> sowie der substituierten Aromate bei 851 cm<sup>-1</sup> und 724 cm<sup>-1</sup> markiert. Die Banden in den IR-Spektren sind für die Nickel-Initiatoren fast identisch, was an der ähnlichen Molekülstruktur

<sup>J</sup> Die Synthese der Vorstufe des bifunktionellen Initiators mit einer BIPNO Funktionalität wurde von Fanru Meng-Leopold im Rahmen eines Forschungspraktikums durchgeführt.

liegt. Eine charakteristische Bande für die funktionelle Endgruppe (TEMPO, TIPNO, BIPNO) kann mittels FT-IR-Spektroskopie nicht nachgewiesen werden.

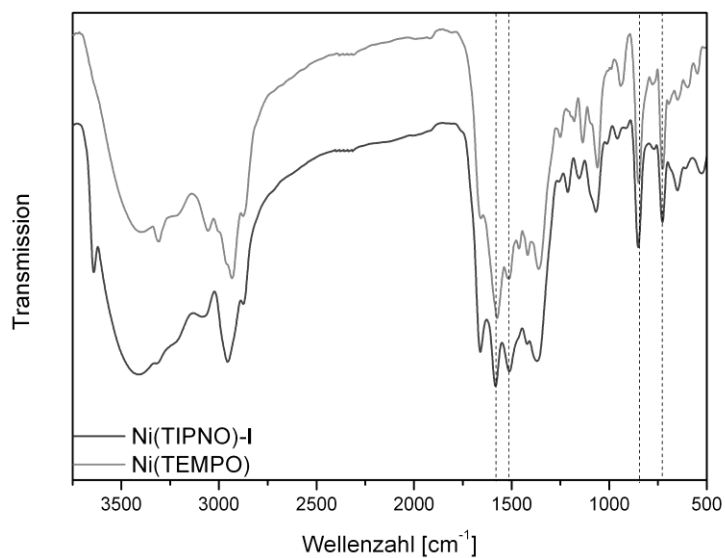


Abbildung 6.5: FT-IR-Spektren der bifunktionellen Initiatoren Ni(TIPNO)-I und Ni(TEMPO).

## 6.2 kontrollierte Polymerisation von Styrol

Um später bei der Synthese von Stäbchen-Knäuel Blockcopolymeren mit PBLG als Makroinitiator die Möglichkeit der Einführung eines Knäuel-Blocks zu haben, wird im folgenden Kapitel zunächst die kontrolliert radikalische Polymerisation von Styrol ohne Makroinitiator untersucht. Zudem wird der Einfluss des Nitroxids (TEMPO, TIPNO, BIPNO) auf die Kinetik der NMP untersucht. Um den zeitlichen Verlauf und den kontrollierten Charakter der NMP von Styrol untersuchen zu können, wurden kinetische Messungen durchgeführt. Bei einer Kinetikuntersuchung lässt sich das Molekulargewicht über den Umsatz auftragen. Ergibt sich ein linearer Zusammenhang, so liegt ein gleichzeitiger Start und Wachstum der Polymerketten vor.<sup>[197]</sup> Ein weiteres Kriterium einer kontrollierten Polymerisation ist die vollständige Initiatoreffizienz, die durch die Auftragung des experimentellen Molekulargewichtes über dem theoretischen Molekulargewicht überprüft werden kann. Dabei sollte sich eine Gerade mit einer Steigung von 1,0 ergeben. Die resultierenden Polymere werden mit engen, monomodalen Molekulargewichtsverteilungen mit einer Polydispersität zwischen 1,1 und 1,4 erhalten.<sup>[197]</sup> Als geeignete Methode für die Untersuchung der Kinetik wird der Monomerverbrauch mittels Gaschromatographie (GC) verfolgt. Ergibt sich bei der Auftragung von  $\ln([M]_0/[M]_t)$  gegen die Zeit ein linearer Zusammenhang, so kann ein Hinweis auf die Kontrolle der Polymerisation gegeben werden.

### 6.2.1 kinetische Untersuchungen der NMP von Styrol mit der Vorstufe des bifunktionellen Initiators

Die Polymerisation von Styrol mit Alkoxyaminen als unimolekulare Initiatoren ist bereits gut untersucht und resultiert häufig in Polymeren mit kontrollierbaren Molekulargewichten und engen Molekulargewichtsverteilungen.<sup>[169]</sup> Aufgrund der thermolytisch instabilen CO-Bindung zerfällt das Alkoxyamin bei erhöhten Temperaturen in die initiiierende Spezies des  $\alpha$ -Methyltoluol-Radikals sowie in das Nitroxid-Radikal mit einer genauen Stöchiometrie von 1:1.<sup>[169]</sup> Hierdurch entsteht ein hoher Grad der Kontrolle über Molekulargewichte und es werden sehr geringe Polydispersitäten erreicht. Es soll hier überprüft werden, ob der Einsatz des bifunktionellen Initiators ebenfalls zu den gewünschten Ergebnissen bzgl. der NMP von Styrol führt. Da Nickel-Komplexe bei höheren Temperaturen instabil sind, werden die

kinetischen Untersuchungen mit der direkten Vorstufe, das modifizierte Alkoxyamin mit Alloc-Gruppe **33**, durchgeführt. Die Polymerisationen werden in Lösung durchgeführt, um anschließend die Ergebnisse mit denen der makroinitiierten NMP besser vergleichen zu können. In Abbildung 6.6 ist die Reaktionsgleichung der NMP von Styrol mit der Vorstufe **33** des bifunktionellen Initiators basierend auf TEMPO **1**, TIPNO **3** oder BIPNO **4** bei 125 °C in abs. DMF dargestellt. Der Monomerverbrauch der Polymerisation wird mithilfe der Gaschromatographie verfolgt. Für diese Methode ist es nötig mit einem internen Standard zu arbeiten. Als interner Standard wird Anisol verwendet, da es inert gegenüber allen anderen verwendeten Edukten ist.<sup>[31, 66, 162]</sup>

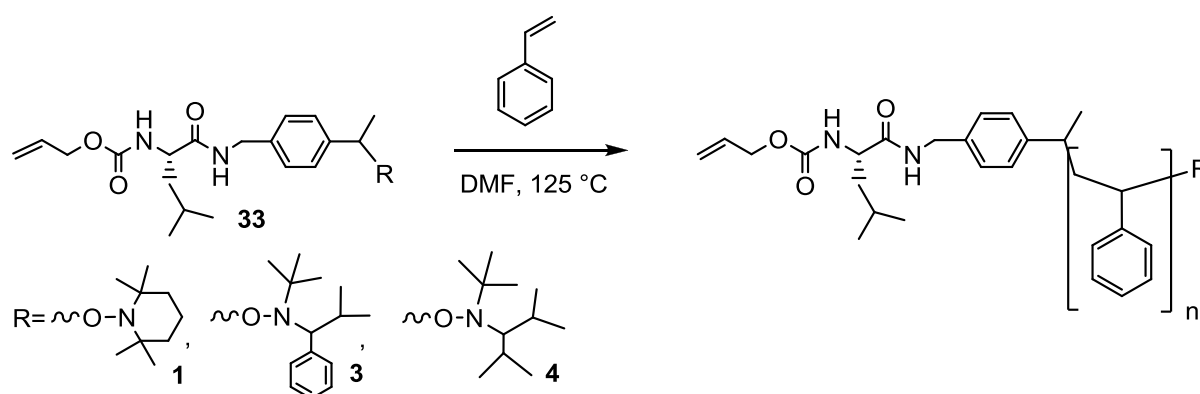


Abbildung 6.6: NMP von Styrol initiiert durch TEMPO **1**, TIPNO **3** oder BIPNO **4** basierendes Alkoxyamin als Vorstufe des bifunktionellen Initiator in abs. DMF bei 125 °C.

Für die kinetischen Messungen werden der Polymerisationslösung in bestimmten Zeitabständen Proben entnommen und mittels Gaschromatographen vermessen. In Tabelle 6.1 sind die eingestellten Monomer/Initiator-Verhältnisse unter Verwendung der TEMPO **1**, TIPNO **3** und BIPNO **4** Initiator-Verbindungen, die ermittelten Umsätze aus den GC-Messungen sowie die experimentellen Molekulargewichte und Polydispersitäten nach Abbruch der Polymerisation zusammengefasst. Die kinetischen Untersuchungen der NMP mit dem TEMPO basierenden Initiator dienen als Vergleich, hier wurden keine Molekulargewichte bestimmt.

Tabelle 6.1: Ergebnisse der NMP von Styrol in Lösung bei 125 °C mit der Vorstufe **33** des bifunktionellen Initiators basierend auf TEMPO **1**, TIPNO **3** und BIPNO **4**.

Ansatz	[M]/[I]	$M_{n(\text{theo})}$ [g/mol]	$M_{n(\text{GPC})}$ [g/mol]	PD	Umsatz <sup>\$</sup> [%]	Zeit [h]
NMP-TEMPO-1*	450	12600	n.b.	n.b.	27	45
NMP-TEMPO-2*	600	22500	n.b.	n.b.	36	47
NMP-TIPNO-1	600	37500	36800	1,35	60	25
NMP-TIPNO-2	900	51700	55000	1,47	61	25
NMP-BIPNO-1	400	25800	29600	1,14	62	6
NMP-BIPNO-2	600	33000	37000	1,20	53	7

\* Die Polymerisationsversuche mit TEMPO wurden bereits in der Diplomarbeit<sup>[217]</sup> durchgeführt, für einen Vergleich der Ansätze für die kinetischen Untersuchungen sind diese ebenfalls angegeben.

\$ Die Umsatzbestimmung erfolgte mithilfe der Gaschromatographie (GC).

Die Ergebnisse zeigen für die Systeme Styrol/TIPNO und Styrol/BIPNO eine gute Übereinstimmung der experimentell mittels GPC-MALLS bestimmten Molekulargewichte  $M_{n(\text{GPC})}$  zu den erwarteten Molekulargewichten  $M_{n(\text{theo})}$ , die unter Einbeziehung der Umsätze berechnet wurden. Lediglich die Polydispersitäten unterscheiden sich für die beiden Systeme. Die Polymerisationen mit TIPNO liefern Polydispersitäten von 1,35 für NMP-TIPNO-1 bzw. 1,47 für NMP-TIPNO-2. Die hohen Werte deuten auf Nebenreaktionen hin wie z.B. die Selbstinitiierung von Styrol. Mit dem BIPNO System werden hingegen viel niedrigere Polydispersitäten von 1,14 für NMP-BIPNO-1 und 1,20 für NMP-BIPNO-2 erhalten, was für einen kontrollierten Charakter der Polymerisation spricht. Zudem lässt sich beim Vergleich der erhaltenen Umsätze zur Polymerisationszeit ein Einfluss des Initiators auf die Reaktionsgeschwindigkeit feststellen. Mit dem TEMPO basierenden Initiator wird Styrol während der Polymerisation langsamer verbraucht als mit den Nitroxiden TIPNO oder BIPNO. Die Polymerisation führte im Ansatz NMP-TEMPO-1 mit einem eingestellten [M]/[I]-Verhältnis von 450 zu einem Monomerverbrauch von 27 % nach einer Reaktionszeit von 45 h. Wird das [M]/[I]-Verhältnis auf 600 eingestellt (NMP-TEMPO-2), wird ein höherer Umsatz nach 47 h von 36 % erreicht. Im Vergleich zum System Styrol/TEMPO erreichen die beiden Initiatoren mit TIPNO und BIPNO bereits in kürzeren Reaktionszeiten von 6 h und 25 h Umsätze von 53 % bis 62 %. Der höchste Umsatz konnte mit dem System Styrol/BIPNO bei einem [M]/[I]-Verhältnis von 400 und einer Reaktionszeit von 6 h erzielt werden.



Bei Betrachtung des kinetischen Verlaufs der Polymerisation von Styrol wird der Einfluss von TEMPO, TIPNO und BIPNO deutlich (Abbildung 6.7). Für alle Systeme ergibt sich ein linearer Zusammenhang zwischen dem Monomerverbrauch  $\ln([M]_0/[M]_t)$  und der Zeit und deutet somit auf einen kontrollierten Verlauf der Polymerisation hin. Eine Ausnahme bildet die Polymerisation NMP-BIPNO-2, wo ein linearer Zusammenhang nur bis 5 h zu beobachten ist. Mit den Systemen Styrol/TEMPO und Styrol/TIPNO verläuft die Polymerisationsgeschwindigkeit mit einer Kinetik 1. Ordnung unabhängig von der eingesetzten Initiatorkonzentration. Dagegen wird eine Abhängigkeit von der Initiatorkonzentration mit dem System Styrol/BIPNO beobachtet. Zudem nimmt die Polymerisationsgeschwindigkeit von TEMPO < TIPNO < BIPNO zu.

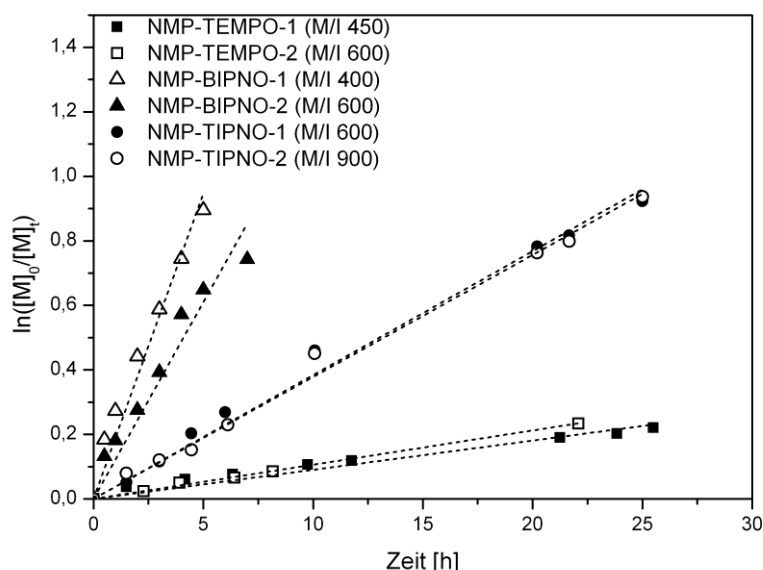


Abbildung 6.7: Auftragung von  $\ln([M]_0/[M]_t)$  gegen die Zeit der NMP von Styrol in Lösung bei 125 °C (mit der Vorstufe **33** des bifunktionellen Initiators basierend auf TEMPO, TIPNO und BIPNO).

In der Literatur wurde die Kinetik der kontrollierten Polymerisation von Styrol mit den Nitroxiden TEMPO, TIPNO und BIPNO sowie die entsprechenden Alkoxyamine bereits gut untersucht. Die Begründung für die unterschiedlichen Polymerisationsgeschwindigkeiten liegt in einer größeren Gleichgewichts- und Dissoziationsgeschwindigkeitskonstante für die beiden Initiatoren TIPNO und BIPNO im Vergleich zum TEMPO.<sup>[216, 218]</sup> Dadurch werden zu Beginn der Polymerisation mehr Radikale gebildet als mit dem TEMPO System, was schließlich die Polymerisationsgeschwindigkeit erhöht. FUKUDA und CATALA bestätigen in ihren Arbeiten, dass die Polymerisationsgeschwindigkeit des Systems Styrol/TEMPO unabhängig von der

Konzentration des TEMPO-Initiators ist.<sup>[219, 220]</sup> Für das System Styrol/TIPNO konnten STUDER et al. dagegen eine Abhängigkeit von der Alkoxyaminkonzentration und auch eine höhere Polymerisationsgeschwindigkeit im Vergleich zum TEMPO-System feststellen.<sup>[218]</sup> Möglicherweise wurde mit dem hier verwendeten TIPNO-System eine zu geringe Initiatorkonzentration eingestellt ( $[M]/[I] = 600$  und  $900$ ), so dass kein Einfluss der Konzentration an TIPNO auf die Kinetik mehr wahrzunehmen ist. DRACHE und FLAKUS untersuchten den Einfluss von BIPNO auf die Kinetik der NMP von Styrol und stellten dabei fest, dass BIPNO im Vergleich zum TEMPO oder TIPNO basierten Alkoxyamin nicht nur eine höhere Kinetik aufweist, sondern auch abhängig von der Initiatorkonzentration ist.<sup>[175, 216]</sup> Die durchgeführten kinetischen Messungen mit dem modifizierten Alkoxyamin **33** basierend auf BIPNO ergeben ebenfalls eine höhere Polymerisationsgeschwindigkeit für das System Styrol/BIPNO, die zusätzlich abhängig von der eingesetzten Initiatorkonzentration ist. Die Entwicklung des Monomerverbrauchs mit der Zeit zeigt, dass bei einem  $[M]/[I]$ -Verhältnis von  $400$  das Monomer erwartungsgemäß schneller verbraucht wird, als bei einer niedrigeren eingestellten Initiatorkonzentration ( $[M]/[I] = 600$ , NMP-BIPNO-2). Ein Abweichen vom linearen Verhalten ab  $5$  h bei NMP-BIPNO-2 kann bedeuten, dass Nebenreaktionen stattgefunden haben. Die Auswirkungen von Nebenreaktionen auf die Kinetik der NMP wurden von FISCHER et al.<sup>[221]</sup> und FUKUDA et al.<sup>[222]</sup> untersucht. Das Abweichen vom linearen Verhalten kann durch Terminierungsreaktionen, Kettenübertragungsreaktionen, aber auch durch die Zersetzung von Alkoxyaminen verursacht werden. Hohe Polydispersitäten, die im Fall des TIPNO-Systems ( $PD = 1,35 - 1,47$ ) erhalten wurden, lassen ebenfalls Nebenreaktionen vermuten. Werden Radikale nicht so schnell mit dem Nitroxid terminiert, sind Abbruchreaktionen zwischen zwei Radikalen häufiger möglich. Als Folge werden höhere Polydispersitäten erhalten.

Die Auftragung von  $\ln([M]_0/[M]_t)$  über die Zeit gibt nur den zeitlichen Monomerverbrauch wieder, aber keine Auskunft über die gebildeten Kettenlängen der Polymere. Daher kann aus der Kinetik allein nicht auf eine kontrollierte Polymerisation geschlossen werden. Einen zusätzlichen Hinweis auf die Kontrolle einer Polymerisation wird durch die Entwicklung des Molekulargewichtes mit fortschreitendem Umsatz gegeben. Für das System Styrol/BIPNO mit einem eingestellten  $[M]/[I]$ -Verhältnis von  $400$  wird bei Auftragung des experimentell mittels GPC bestimmten Molekulargewichtes gegen den Umsatz ein linearer Zusammenhang beobachtet (Abbildung 6.8). Zudem liegen die Polydispersitäten alle unterhalb von  $1,20$ , was ebenfalls auf einen kontrollierten Charakter der Polymerisation hindeutet. Die geringfügige

Diskrepanz zwischen den mittels GPC-MALLS bestimmten Molekulargewichten zum erwarteten Molekulargewicht kann bei der Auswertung der Daten auf ein ungenau bestimmtes Brechungsindexinkrement  $(dn/dc)^K$  hindeuten. Der Fehler liegt aber im Bereich der GPC-Analytik.

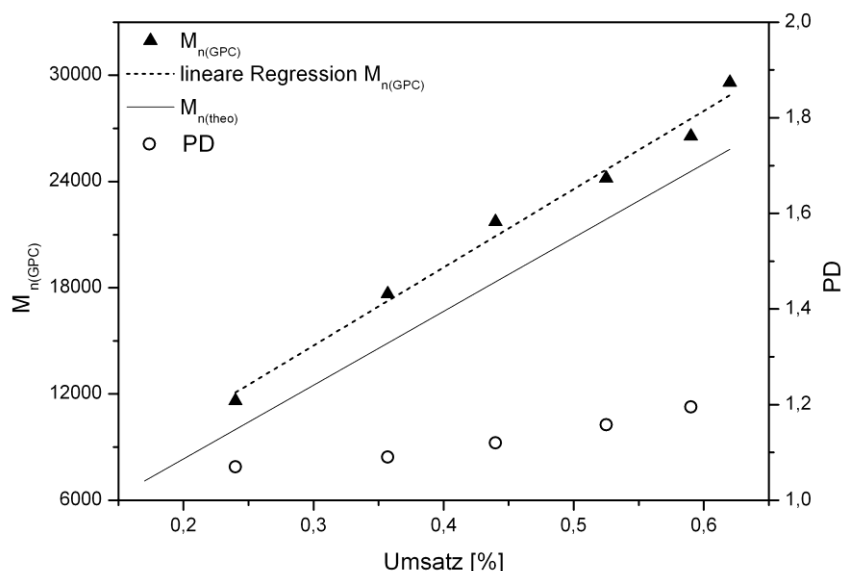


Abbildung 6.8: Auftragung des mittels GPC bestimmten Molekulargewichtes über den Umsatz, des theoretischen Molekulargewichtes über dem Umsatz und der PD über dem Umsatz.

In Abbildung 6.9 sind die GPC-Kurven der Polymere aus dem Ansatz NMP-BIPNO-1 nach unterschiedlichen Zeiten gezeigt. Die GPC-Kurven sind mit der Zeit zu niedrigeren Elutionszeiten verschoben, was qualitativ ein Wachstum des Molekulargewichts mit der Zeit beschreibt. Die Chromatogramme sind monomodal und eng. Eine kleine Schulter im hochmolekularen Bereich wird für die Polymerproben ab 4 h detektiert und kann auf noch ungelöste Aggregate zurückgeführt werden.

<sup>K</sup> Mithilfe des Refraktometers wurde für Polystyrol ein Brechungsindexinkrement  $(dn/dc)$  mit 0,171 bestimmt. Die Messungen der Konzentrationsreihe von Polystyrol wurden in DMF bei 60 °C durchgeführt.

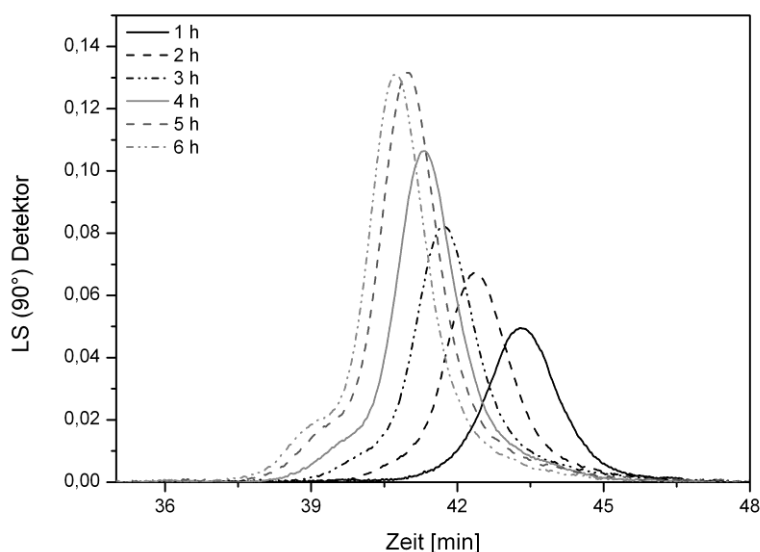


Abbildung 6.9: GPC-Kurven der Polymerproben aus dem Ansatz NMP-BIPNO-1 nach unterschiedlichen Zeiten.

Insgesamt lässt sich feststellen, dass die unterschiedlichen bifunktionellen Initiatoren mit einer TEMPO, TIPNO oder BIPNO-Funktion einen Einfluss auf die Kinetik der NMP von Styrol in Lösung zeigen. Die Polymerisationsgeschwindigkeit nimmt in Richtung TEMPO zu TIPNO über BIPNO zu. Für alle drei Systeme konnte ein linearer Zusammenhang von  $\ln([M]_0/[M]_t)$  über die Zeit beobachtet werden, was eine kontrolliert ablaufende Polymerisation vermuten lässt. Zudem konnte für die beiden Systeme Styrol/TIPNO und Styrol/BIPNO eine gute Übereinstimmung der experimentell mittels GPC-MALLS bestimmten Molekulargewichte zu den erwarteten Molekulargewichten erzielt werden. Ein Vergleich der Polydispersitäten für die Systeme TIPNO ( $PD = 1,35 - 1,47$ ) und BIPNO ( $PD = 1,14 - 1,20$ ) zeigt, dass mit BIPNO engere Molekulargewichtsverteilungen erreicht werden können. Zudem lieferte die Auftragung der ermittelten Molekulargewichte über den Umsatz für das System Styrol/BIPNO ebenfalls einen linearen Zusammenhang. Mit BIPNO als Initiatorsystem in der NMP von Styrol werden Polymere mit engen Molekulargewichtsverteilungen und kontrollierbaren Molekulargewichten erhalten.

Im Folgenden soll überprüft werden, ob die hier gewonnenen Erkenntnisse auch auf die makroinitiierte NMP von Styrol übertragen werden können.

### 6.2.2 kinetische Untersuchungen der PBLG-makroinitiierten NMP von Styrol

Für die Darstellung von Stäbchen-Knäuel Blockcopolymer wird zunächst mit dem bifunktionellen Initiator **34** PBLG als Makroinitiator hergestellt. Als Monomer für den Knäuel-Block wird Styrol eingesetzt, da es für die NMP gut geeignet und bereits gut untersucht wurde.<sup>[169]</sup> Als Makroinitiatoren werden verschiedene PBLGs eingesetzt, die sich in der Kettenlänge und in der Nitroxid-Endgruppe unterscheiden. Die Synthese des PBLG-Makroinitiators mit verschiedenen Nitroxid-Endgruppen TEMPO **1**, TIPNO **3** und BIPNO **4** erfolgte mit der Nickel-initiierten NCA Polymerisation, deren Ergebnisse bereits in Kapitel 4.1.1 diskutiert wurden. Die NMP von Styrol wird in Lösung durchgeführt, da sich PBLG nicht vollständig in Styrol löst. Als Lösungsmittel eignet sich DMF, in dem sich das PBLG sehr gut löst und in dem auch die NMP von Styrol schon erfolgreich durchgeführt wurde.<sup>[31, 162]</sup> Die Polymerisation findet bei einer Temperatur von 125 °C unter Inertgasatmosphäre statt. Der Syntheseweg für die Herstellung von PBLG-*b*-PS Blockcopolymer ist in Abbildung 6.10 dargestellt.

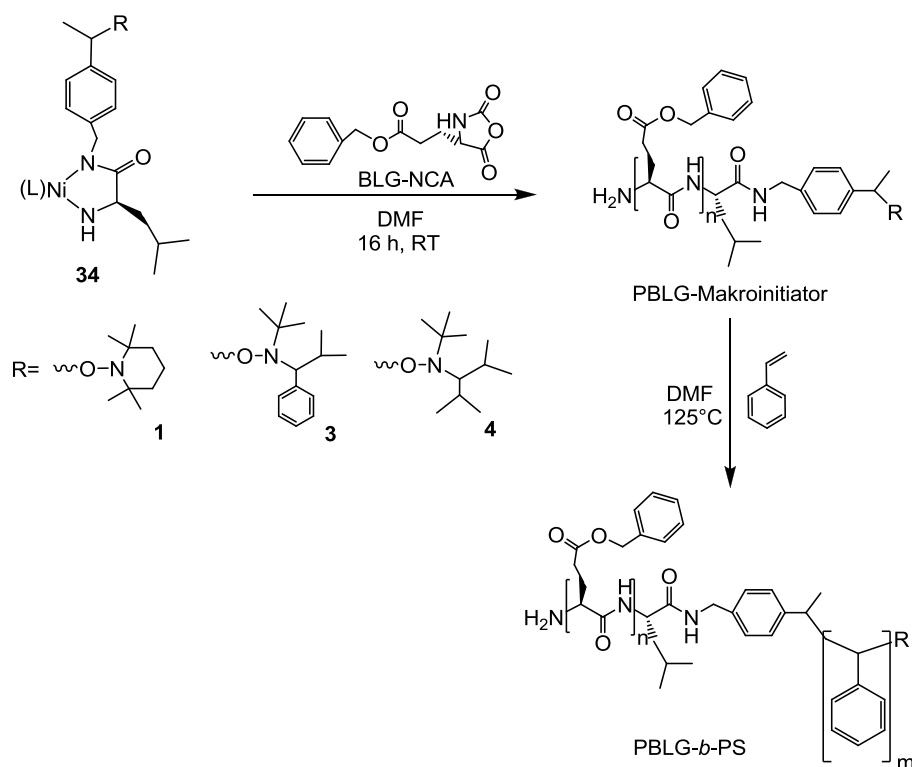


Abbildung 6.10: Syntheseweg zur Darstellung von PBLG-*b*-PS mithilfe des bifunktionellen Initiators **34** für die Herstellung des PBLG-Makroinitiators und dessen Einsatz in die NMP von Styrol.

Es wurde beschrieben, dass PBLG bei erhöhten Temperaturen ab 120 °C nicht stabil ist und degradiert.<sup>[15]</sup> Untersuchungen von KNOOP et al. konnten diese Aussage nicht bestätigen. Diese Arbeitsgruppe führte Kontrollexperimente durch, indem PBLG in DMF unter NMP

Bedingungen (125 °C für 5 h) ausgesetzt wurde, wobei PBLG stabil bleibt.<sup>[31]</sup> In eigenen Untersuchungen konnte festgestellt werden, dass ein Abbau von PBLG nach längeren Polymerisationszeiten nicht auszuschließen ist, aber bis zu einer Polymerisationszeit von etwa 7 h ausreichend stabil bleibt.<sup>[223]</sup>

Von besonderem Interesse ist der Einfluss des Makroinitiators und der Nitroxid-Endgruppe auf die Kinetik der NMP von Styrol. Zur Überprüfung einer kontrolliert radikalisch ablaufenden Polymerisation wurde die Kinetik der NMP von Styrol über den Monomerverbrauch mittels Gaschromatographie untersucht. Für die Kinetikuntersuchungen wurde Anisol als interner Standard zugegeben, da es inert gegenüber dem verwendeten System Monomer/PBLG-Makroinitiator ist. In der Tabelle 6.2 sind die Ansätze der Polymerisationen mit den eingestellten  $[M]/[I]$ -Verhältnissen des eingesetzten PBLG-Makroinitiators mit der Nitroxid-Endgruppe TEMPO, TIPNO und BIPNO sowie die Umsätze aus den GC-Messungen zusammengefasst.

Tabelle 6.2: Ansätze der PBLG-makroinitiierten NMP von Styrol mit den Nitroxid-Endgruppen TEMPO, TIPNO und BIPNO bei 125 °C für die Herstellung von PBLG-*b*-PS Blockcopolymer.

Ansatz	bifunktionaler Initiator*	$M_{n(GPC)}$ [g/mol] (PBLG)	$[M]/[I]$	Zeit [h]	Umsatz <sup>§</sup> [%]
PBLG- <i>b</i> -PS-1	Ni(TEMPO)	32000	400	6	31
PBLG- <i>b</i> -PS-2	Ni(TEMPO)	32000	600	7	39
PBLG- <i>b</i> -PS-3	Ni(TEMPO)	40000	600	5	34
PBLG- <i>b</i> -PS-4	Ni(TIPNO)- <b>I</b>	23000	600	6,5	43
PBLG- <i>b</i> -PS-5	Ni(TIPNO)- <b>I</b>	32000	500	6	35
PBLG- <i>b</i> -PS-6	Ni(TIPNO)- <b>II</b>	27000	540	7	57
PBLG- <i>b</i> -PS-7	Ni(BIPNO)- <b>I</b>	17000	300	7	49
PBLG- <i>b</i> -PS-8	Ni(BIPNO)- <b>I</b>	32000	360	7	42

\* Die Nickel-Initiatoren mit der Kennzeichnung **I** und **II** unterschieden sich in den Liganden: **I** = phen; **II** = bpy

<sup>§</sup> Die Umsatzbestimmung erfolgte mithilfe der Gaschromatographie (GC).

Nach einer Polymerisationsdauer von 5 bis 7 h konnten Umsätze zwischen 31 und 57 % erreicht werden. Die PBLG-makroinitiierte NMP von Styrol basierend auf TEMPO erreicht im Vergleich zu TIPNO und BIPNO die geringsten Umsätze mit 31 bis 39 %. Der geringe Umsatz hängt vermutlich mit der langsamen Polymerisationsgeschwindigkeit des TEMPO basierenden Initiators zusammen, was die Ergebnisse aus den Voruntersuchungen bestätigt (s. Kapitel 6.2.1). Die Kinetik wurde experimentell über den Monomerverbrauch mittels

Gaschromatographie untersucht. Zunächst soll der Einfluss der Nitroxid-Endgruppe mit einem PBLG-Makroinitiator der gleichen Kettenlänge auf die Kinetik untersucht werden. Die PBLG-Makroinitiatoren mit einem gleichen Molekulargewicht von 32000 g/mol konnten in unterschiedlichen Ansätzen der Nickel-initiierten NCA Polymerisation hergestellt werden. In Abbildung 6.11 sind dazu die Kinetik-Messungen der NMP von Styrol mit einem PBLG-Makroinitiator von 32000 g/mol und variierender Nitroxid-Endgruppe (TEMPO, TIPNO und BIPNO) graphisch dargestellt.

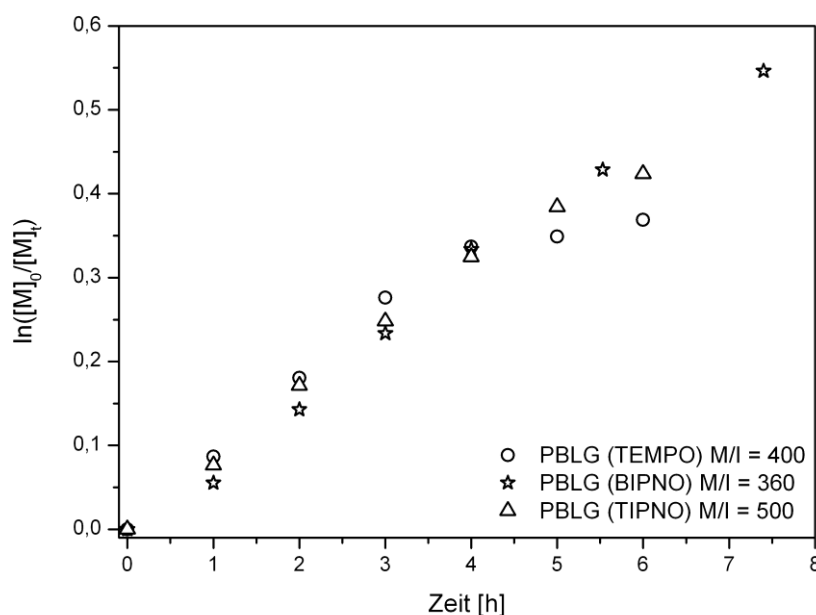


Abbildung 6.11: Auftragung von  $\ln([M]_0/[M]_t)$  gegen die Zeit der NMP von Styrol in Lösung bei 125 °C mit PBLG-Makroinitiator von 32000 g/mol und der Nitroxid-Endgruppe TEMPO (PBLG-*b*-PS-1), TIPNO (PBLG-*b*-PS-5) und BIPNO (PBLG-*b*-PS-8).

Die Polymerisation von Styrol verläuft in allen durchgeführten Ansätzen mit einer Kinetik 1. Ordnung. Ein Einfluss der Nitroxid-Endgruppe auf die Kinetik kann nicht beobachtet werden, die Geschwindigkeiten verlaufen relativ ähnlich. Ab einer bestimmten Reaktionsdauer wird jedoch eine Abweichung vom linearen Zusammenhang zwischen  $\ln([M]_0/[M]_t)$  und der Zeit beobachtet. Die makroinitiierte NMP mit TEMPO (PBLG-*b*-PS-1) verläuft bis zu 4 h linear mit einem Verbrauch von ca. 9 % / h, anschließend wird das Monomer langsamer mit ca. 1,5 % / h verbraucht. Für die makroinitiierte NMP von Styrol mit dem Nitroxid TIPNO wird eine Abweichung vom linearen Zusammenhang hier erst nach 5 h beobachtet. Zu Beginn wird das Monomer mit ~ 9 % / h und nach 5 h mit ~ 3,5 % / h verbraucht. Der Übergang einer zunächst schnellen Polymerisation zu einer langsameren ist vermutlich auf Abbruch-

reaktionen einiger Ketten zurückzuführen. Ein linearer Zusammenhang zwischen  $\ln([M]_0/[M]_t)$  und der Zeit bis zum Abbruch der Polymerisation nach 7 h wird hingegen mit dem Nitroxid BIPNO beobachtet. Das Monomer wird durchschnittlich mit etwa 9 % / h verbraucht. Aus den Kinetikuntersuchungen der makroinitiierten NMP von Styrol kann vermutet werden, dass die Kontrolle mit TEMPO und TIPNO als Nitroxid-Endgruppe nach einer bestimmten Polymerisationszeit abnimmt. Mit BIPNO als Nitroxid-Endgruppe wird hingegen eine Kontrolle über die gesamte Polymerisationszeit beobachtet.

Ebenfalls wurde der Einfluss der Kettenlänge von PBLG und der Nitroxid-Endgruppe auf die Kinetik untersucht. Dafür wurden PBLG-Makroinitiatoren mit unterschiedlichen Molekulargewichten hergestellt und in die NMP von Styrol eingesetzt. Als Makroinitiator wurden jeweils zwei verschiedene PBLGs mit der Nitroxid-Endgruppe BIPNO und TIPNO verwendet, die sich im Molekulargewicht unterscheiden (Abbildung 6.12). Um nur den Einfluss der Kettenlänge auf die Kinetik zu untersuchen, wurde versucht eine ähnliche Initiatorkonzentration einzustellen.

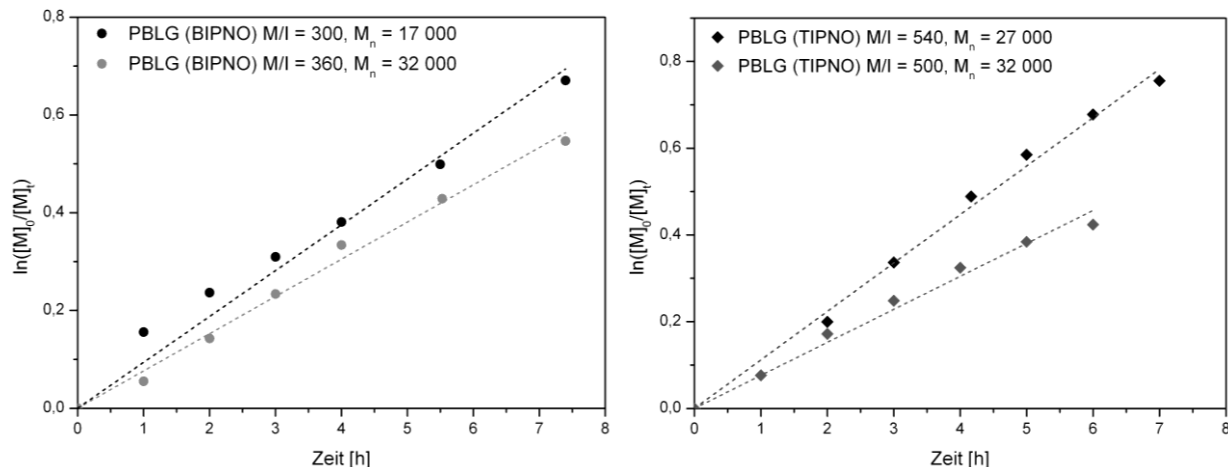


Abbildung 6.12: Auftragung von  $\ln([M]_0/[M]_t)$  gegen die Zeit der NMP von Styrol in Lösung bei 125 °C. Links: PBLG-Makroinitiator (BIPNO) mit  $M_n = 17000$  und  $32000$  g/mol; Rechts: PBLG-Makroinitiator (TIPNO) mit  $M_n = 27000$  und  $32000$  g/mol.

Die Kinetikuntersuchungen mit PBLG-Makroinitiator mit BIPNO sowie mit TIPNO als Nitroxid-Endgruppe zeigen einen linearen Zusammenhang zwischen  $\ln([M]_0/[M]_t)$  und der Zeit. In beiden Fällen wird beobachtet, dass mit einem größeren Molekulargewicht des eingesetzten PBLG-Makroinitiators eine niedrigere Polymerisationsgeschwindigkeit als mit



einem kleinen Molekulargewicht erreicht wird. Somit wird die Kinetik von der Kettenlänge des PBLGs beeinflusst.

Insgesamt lässt sich feststellen, dass die Kinetik der makroinitiierten NMP von Styrol mit den Nitroxid-Endgruppen TEMPO, TIPNO und BIPNO linear mit einer Kinetik 1. Ordnung verlaufen. Die Polymerisationsgeschwindigkeit wird dabei durch die Kettenlänge des PBLGs beeinflusst. Unter Verwendung eines kleinen PBLG-Makroinitiators wird eine höhere Polymerisationsgeschwindigkeit im Vergleich mit einem größeren Makroinitiator erreicht. Mit steigender Kettenlänge nimmt vermutlich die Beweglichkeit des Makroinitiators in Lösung ab und das Monomer wird langsamer an das Polymerkettenende addiert. Die Nitroxid-Endgruppe spielt ebenfalls eine wichtige Rolle, mit BIPNO und TIPNO wird im Vergleich zu TEMPO ein höherer Umsatz in der gleichen Polymerisationszeit erreicht. Auffällig ist die plötzliche Änderung der Polymerisationsgeschwindigkeit ab einer bestimmten Polymerisationszeit, die nur mit den Systemen TEMPO und TIPNO beobachtet wird. Beispielsweise wird das Monomer mit TEMPO bis zu 4 h gleichmäßig verbraucht, anschließend verläuft die Polymerisationsgeschwindigkeit fast gegen Null. Parallel zum unimolekularen Mechanismus läuft der Mechanismus der Selbstinitiiierung von Styrol ab.<sup>[177, 224]</sup> Durch die Selbstinitiiierung von Styrol werden zusätzliche Radikale gebildet, die als Radikalquelle für eine kontrollierte Polymerisation wichtig sind (*persistent radical effect*).<sup>[219]</sup> Ein Abweichen vom linearen Zusammenhang ist ein Hinweis auf die Anwesenheit von Nebenreaktionen im System. Kommt es vermehrt zu Abbruchreaktionen, so sind durch die Selbstinitiiierung von Styrol mehrere Radikalkombinationen möglich. Es können unifunktionelle Ketten gebildet werden, die durch die Radikalkombination von thermisch gestarteten Styrolradikalen und dem Nitroxid entstehen. Aber auch Radikalkombinationen zwischen thermisch gestarteten Radikalketten mit unifunktionellen Radikalen sind so möglich. Zudem besteht nach FISCHER et al. die Möglichkeit einer thermischen Zersetzung des Alkoxyamins in ein Hydroxylamin und Styrol, wobei eine  $\beta$ -Wasserstoff-Abstraktion stattfindet.<sup>[221]</sup> In Abbildung 6.13 ist die Disproportionierungsreaktion dargestellt.

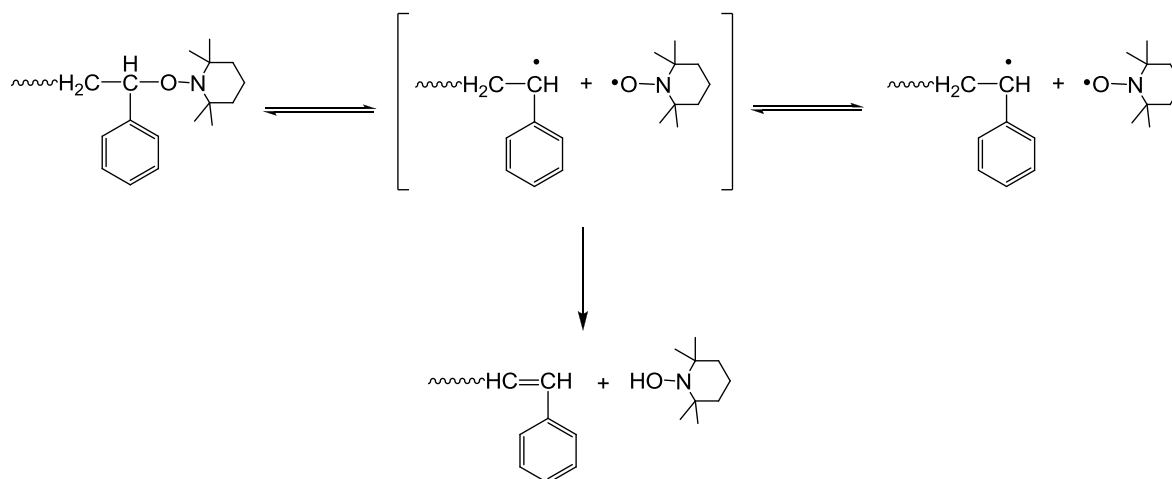


Abbildung 6.13: Disproportionierungsreaktion bei Polystyrol mit TEMPO.<sup>[221]</sup>

Mit BIPNO als Nitroxid-Endgruppe verläuft die Polymerisation vermutlich durch die größere Gleichgewichts- und Dissoziationsgeschwindigkeitskonstante mit der Polymerisationszeit etwas stabiler. Bis zum Abbruch der Polymerisation wurde das Monomer stetig mit gleicher Geschwindigkeit weiter verbraucht und lässt daher auf einen kontrollierten Charakter der Polymerisation schließen. Da die Kinetik 1. Ordnung allein nicht unbedingt ein Zeichen für eine kontrollierte Polymerisation ist, muss zusätzlich die Entwicklung des Molekulargewichtes mit der Zeit beobachtet werden, um eindeutige Aussagen über das Verhalten einer kontrollierten Polymerisation machen zu können. Auch sollte mit einer geeigneten Methode die Bildung von Blockcopolymer nachgewiesen werden, um einen zusätzlichen Hinweis auf die Kontrolle der makroinitiierten Polymerisation zu bekommen. Dazu wurden die Polymere mit verschiedenen Analytikmethoden eingehend charakterisiert. Im Folgenden sollen die Ergebnisse der Untersuchungen vorgestellt und diskutiert werden.

### 6.2.3 Charakterisierung der PBLG-*b*-PS Blockcopolymeren

Um Aussagen über die Kettenlängen der gebildeten PBLG-*b*-PS Blockcopolymeren treffen zu können, wurden die Polymere mittels GPC-Analytik analysiert. Allerdings erlaubt die GPC-Analytik keine Rückschlüsse auf die chemische Zusammensetzung der Polymere. Für einen Nachweis der Bildung von Blockcopolymer wurde hier die Flüssigkeitsadsorptionschromatographie unter kritischen Bedingungen (Liquid Adsorption Chromatography at Critical Conditions - LACCC) eingesetzt. Bei der LACCC-Methode werden die Polymere unabhängig von der molaren Masse nach ihrer chemischen Zusammensetzung getrennt.<sup>[225]</sup> Zusätzlich wurde mittels <sup>1</sup>H-NMR-Spektroskopie die Zusammensetzung der Blockcopolymeren untersucht. In der Tabelle 6.3 sind die Ergebnisse der PBLG-makroinitiierten NMPs von Styrol zusammengefasst.

Tabelle 6.3: Mittels GPC-MALLS bestimmte  $M_n$  und PD der PBLG-*b*-PS Blockcopolymeren im Bezug zum  $M_{n(\text{theo})}$  sowie die Ergebnisse der mittels <sup>1</sup>H-NMR bestimmten Zusammensetzung.

Ansatz	<i>PBLG</i>		<i>PS</i>		<i>PBLG-b-PS</i>		
	$M_{n(\text{GPC})}$ [g/mol]	PD	$M_{n(\text{theo})}$ [g/mol]	$M_{n(\text{theo})}$ [g/mol]	$M_{n(\text{GPC})}^*$ [g/mol]	PD	<sup>1</sup> H-NMR
PBLG- <i>b</i> -PS-1	PBLG(TEMPO) 32000	1,43	13000	45000	56000	1,37	69:31
PBLG- <i>b</i> -PS-2	PBLG(TEMPO) 32000	1,43	24500	56500	77000	1,14	51:49
PBLG- <i>b</i> -PS-3	PBLG(TEMPO) 40000	1,37	14000	54000	51000	1,32	60:40
PBLG- <i>b</i> -PS-4	PBLG(TIPNO) 23000	1,48	27000	50000	31000	1,80	31:69
PBLG- <i>b</i> -PS-5	PBLG(TIPNO) 32000	1,35	18000	50000	30000	1,44	57:43
PBLG- <i>b</i> -PS-6	PBLG(TIPNO) 27000	1,38	32000	59000	41000	1,56	33:67
PBLG- <i>b</i> -PS-7	PBLG(BIPNO) 17000	1,45	15000	32000	49000	1,60	23:77
PBLG- <i>b</i> -PS-8	PBLG(BIPNO) 32000	1,40	16000	48000	50000	1,58	43:57

\* Die Auswertung des Molekulargewichts erfolgte nach der Massenwiederfindung der Probe mittels GPC-Analytik.

Mit Ausnahme von PBLG-*b*-PS-5 wird in allen Polymerisationen eine Zunahme des Molekulargewichtes im Vergleich zum eingesetzten PBLG-Makroinitiator mittels GPC-MALLS beobachtet. Die erhaltenen Polydispersitäten der Blockcopolymeren zeigen mit den TIPNO und BIPNO basierenden Systemen im Vergleich zum eingesetzten PBLG-Makroinitiator eine zunehmende Tendenz und mit dem TEMPO-basierenden System eine abnehmende Tendenz. Ein Vergleich des erwarteten Molekulargewichtes zum experimentell bestimmten Molekulargewicht zeigt, dass in den meisten Polymerisationen keine Übereinstimmung erzielt werden konnte. Allerdings muss darauf hingewiesen werden, dass

bei der Auswertung mittels GPC-MALLS das Molekulargewicht mit der Annahme einer vollständigen Massenwiederfindung der Polymerprobe durch RI-Detektion berechnet wurde. Die Annahme der vollständigen Massenwiederfindung kann zu falschen Werten führen. Für eine bessere Auswertung müsste das Brechungsindexinkrement ( $dn/dc$ ) jedes einzelnen Blockcopolymers bekannt sein. Die ermittelten Zahlenmittel der Molekulargewichte können aufgrund dieser Limitation fehlerbehaftet sein.

Mithilfe der  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie kann über die Integration der entsprechenden Protonensignale von PBLG und PS die Zusammensetzung des Polymers bestimmt werden. In Abbildung 6.14 ist das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum der Probe PBLG-*b*-PS-5 gezeigt.

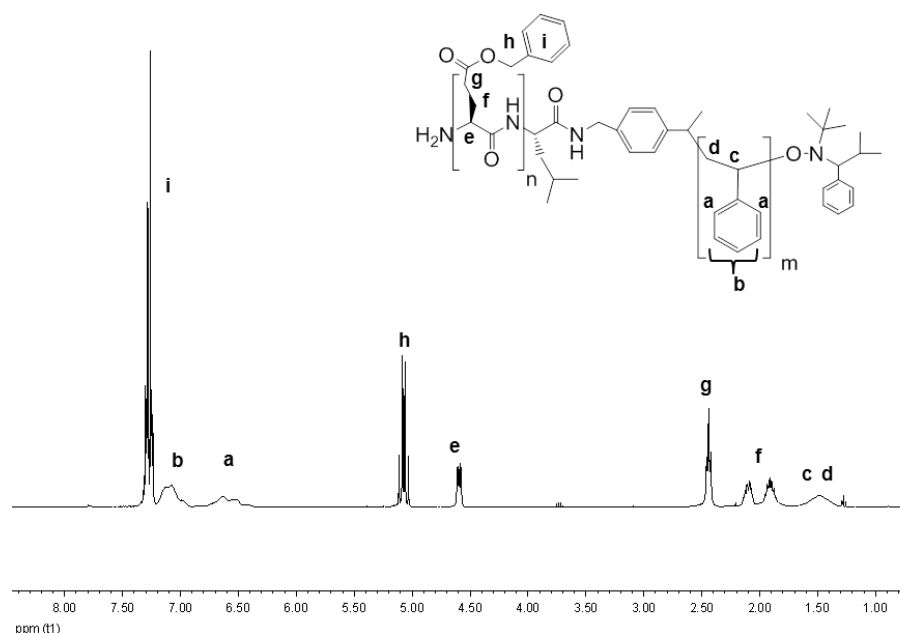


Abbildung 6.14:  $^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3 + 15\% \text{ TFA}$ , 400 MHz) Spektrum von PBLG-*b*-PS-5.

Die Zusammensetzung wird über das Verhältnis der Methylenprotonen ( $\text{CH}_2$ -**h**) des PBLG zum Protonensignal der Benzylgruppe des PS ( $\text{CH}$ -**a**) erhalten. Das ermittelte Verhältnis von PBLG zu PS beträgt für diese Probe 57:43. Ein Vergleich der ermittelten Zusammensetzungen aus der  $^1\text{H}$ -NMR-Analyse zum erwarteten PS-Anteil von 36 % ( $M_{n(\text{theo})} = 18000 \text{ g/mol}$ ) zeigt in diesem Fall eine geringe Diskrepanz. Die Daten können allerdings nur unter der Voraussetzung verglichen werden, dass während der Polymerisation keine Änderung der Kettenlänge von PBLG aufgetreten ist.

**TEMPO:** Die Ergebnisse der Zusammensetzungen aus der  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie für die Polymerisationen unter Verwendung eines PBLG-Makroinitiators mit einer TEMPO-Endfunktion mit  $M_n = 32000$  g/mol zeigen eine gute Übereinstimmung der ermittelten Massenanteile von PBLG und PS zur theoretischen Zusammensetzung. Für das Polymer PBLG-*b*-PS-1 wurde eine Zusammensetzung von 69:31 (PBLG zu PS) gefunden, was bei dem eingesetzten Makroinitiator von 32000 g/mol einem PS-Block mit etwa 13700 g/mol entspricht. Für den PS-Block wurde ein Molekulargewicht von etwa 13000 g/mol erwartet. Das experimentell mittels GPC-MALLS bestimmte Molekulargewicht von 56000 g/mol liegt jedoch viel höher als erwartet ( $M_{n(\text{theo})} = 45000$  g/mol), was vermutlich auf die fehlerhafte Auswertung durch die Annahme der vollständigen Massenwiederfindung zurückgeführt werden kann. Eine etwa gleich große Zusammensetzung von PBLG zu PS mit 51:49 enthält das Polymer PBLG-*b*-PS-2. Der ermittelte PS-Anteil liegt dabei etwas höher als erwartet, befindet sich aber noch im Bereich des Fehlers der  $^1\text{H}$ -NMR Auswertung. Die Polymerisationen mit einem PBLG-Makroinitiator mit einer TEMPO-Endfunktion erreichen insgesamt niedrige PDs mit Werten zwischen 1,14 und 1,37. Auffällig ist, dass die Molekulargewichtsverteilungen dieser Blockcopolymere im Gegensatz zum eingesetzten Makroinitiator enger sind. Das Phänomen der Absenkung der Polydispersität konnte bisher nicht eindeutig geklärt werden. In Abbildung 6.15 ist das GPC-Chromatogramm des PBLG-*b*-PS-2 Blockcopolymers zum eingesetzten PBLG-Makroinitiator ( $M_n = 32000$  g/mol) gezeigt.

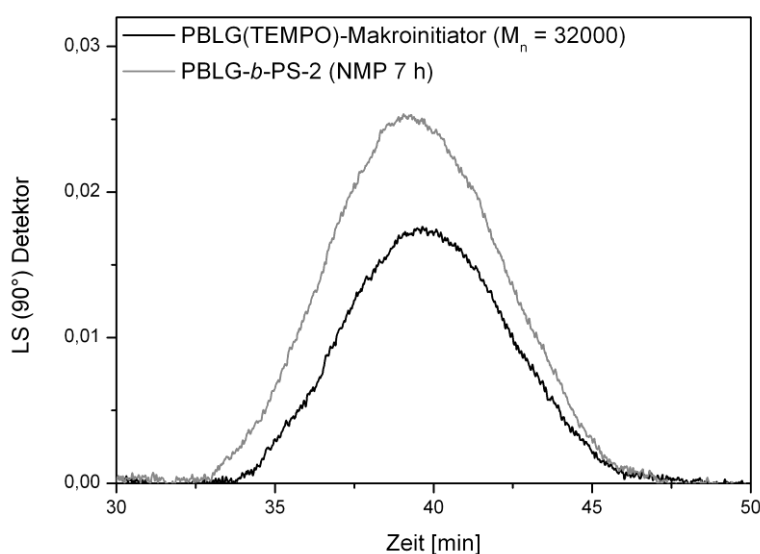


Abbildung 6.15: GPC-Chromatogramm des PBLG-*b*-PS-2 Blockcopolymers (TEMPO) nach der NMP von 7 h unter Verwendung von PBLG-Makroinitiator mit  $M_n = 32000$  g/mol.

Für das Blockcopolymer PBLG-*b*-PS-2 wird eine monomodale Molekulargewichtsverteilung erhalten. Im Vergleich zum eingesetzten Makroinitiator wird nur eine geringfügige Verschiebung der Molekulargewichtsverteilung zu niedrigeren Elutionszeiten beobachtet. Mit der GPC-Analytik kann die Entstehung von Blockcopolymer deshalb nicht eindeutig nachgewiesen werden. Wenn sowohl PS-Homopolymer als auch Blockcopolymer und Makroinitiator parallel vorliegen, diese Polymere aber aufgrund eines vergleichbaren hydrodynamischen Volumens zu ähnlichen Zeiten eluieren, so können sie in der GPC nicht aufgetrennt werden. Das Chromatogramm erscheint monomodal. Um genauere Aussagen über eine erfolgreiche Bildung von Blockcopolymer machen zu können, und um zwischen den einzelnen Spezies unterscheiden zu können, wurden die Polymere mithilfe der LACCC-Analytik vermessen.<sup>L</sup> Die Trennung nach der chemischen Zusammensetzung wird durch Änderung eines geeigneten Lösungsmittels für das Polymer am „kritischen“ Punkt der Adsorption durch Zugabe eines thermodynamisch armen Lösungsmittels erhalten.<sup>[226]</sup> Experimentell werden zunächst die kritischen Bedingungen separat für PS und PBLG durch Änderung des Laufmittels bzw. des Laufmittelgemisches bestimmt. Beide Polymere sollten unabhängig von ihrer Kettenlänge zu unterschiedlichen Retentionszeiten eluieren. Als geeignetes Eluentengemisch für die reinen Homopolymere wurde eine Mischung aus Tetrahydrofuran (THF) und Acetonitril (ACN) eingesetzt. Zu Beginn der Messung wird das Lösungsmittelgemisch von 0 bis 3,5 min in einem Verhältnis 53:47 für THF zu ACN verwendet, wobei zuerst das PBLG-Homopolymer eluiert. Anschließend wird graduell auf 60 % THF von 3,5 bis 5 min erhöht. In diesem Zeitfenster eluiert das PS-Homopolymer. Es wurden verschiedene PBLGs mit Molekulargewichten von 17000, 23000 und 32000 g/mol untersucht. Die Elutionszeit für PBLG in diesem Laufmittel beträgt 2,3 min und ist unabhängig von der Kettenlänge. Die Elutionskurven für PBLG mit  $M_n = 23000$  und 17000 g/mol zeigen außerdem einen kleinen zusätzlichen Peak, der eine Aggregation andeutet. Es ist bekannt, dass PBLG in THF zur Aggregation neigt.<sup>[16]</sup> Verhindert werden kann die Bildung von Aggregaten durch Verwendung des Lösungsmittels DMF mit LiBr, welches allerdings aufgrund der Inkompatibilität mit dem Säulenmaterial der LACCC-Technik nicht verwendet werden konnte. Da der Peak verschwindend gering ist, ist das Auftreten der Aggregationsbildung zu vernachlässigen und sollte beim Nachweis von Blockcopolymer nicht weiter stören. Für die Untersuchung der kritischen Bedingungen für PS wurden Standards mit Molekulargewichten von 35500 und 10500 g/mol verwendet. Die

---

<sup>L</sup> Die LACCC-Messungen wurden in Kooperation mit Frau Dr. Jana Falkenhagen an der BAM in Berlin durchgeführt.

Elutionszeit beträgt hier 3,8 min und ist ebenfalls unabhängig vom Molekulargewicht. Die LACCC-Elutionskurven der beiden Homopolymere mit unterschiedlichen Molekulargewichten befinden sich im Anhang. Unter den ermittelten kritischen Bedingungen der LACCC sollte das Blockcopolymer in einem Zeitfenster von 2,3 bis 3,8 min eluieren. In Abbildung 6.16 sind zwei Chromatogramme der Blockcopolymeren gezeigt, welche jeweils mit einem PBLG(TEMPO)-Makroinitiator mit einem  $M_n$  von 32000 g/mol hergestellt wurden.

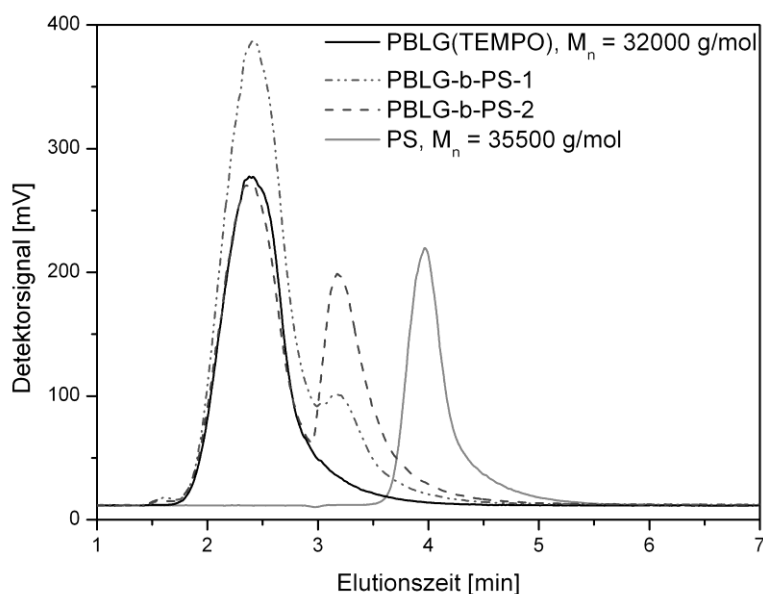


Abbildung 6.16: LACCC-Chromatogramm von PBLG-*b*-PS-1 und PBLG-*b*-PS-2, hergestellt unter Verwendung des PBLG(TEMPO)-Makroinitiators mit  $M_n = 32000$  g/mol.

Beide Chromatogramme der Polymerproben PBLG-*b*-PS-1 und PBLG-*b*-PS-2 zeigen Peaks für PBLG-Homopolymer und PBLG-*b*-PS Blockcopolymer. Der Peak zwischen PBLG-Homopolymer und PS-Homopolymer entspricht PBLG-*b*-PS Blockcopolymer und befindet sich bei einer Elutionszeit von etwa 3,2 min. PBLG-*b*-PS-1 wurde mit PBLG-Makroinitiator ( $M_n = 32000$  g/mol) mit einem  $[M]/[I]$ -Verhältnis von 400 hergestellt. Das Elutionschromatogramm zeigt einen Peak für PBLG-Homopolymer mit einer kleinen Schulter für Blockcopolymer. Das resultierende Polymer aus PBLG-*b*-PS-2, welches ebenfalls mit dem PBLG-Makroinitiator ( $M_n = 32000$  g/mol), aber mit einem eingestellten  $[M]/[I]$ -Verhältnis von 600 hergestellt wurde, zeigt hingegen einen deutlichen Peak an Blockcopolymer, welcher getrennt vom PBLG-Homopolymer vorliegt. Da die LACCC-Methodik nur qualitativ eine Auskunft auf gebildetes Blockcopolymer gibt, kann der Anteil an Homopolymer bzw.

Blockcopolymer nicht quantifiziert werden. Trotzdem ist zu erwarten, dass der Anteil an gebildetem Blockcopolymer für PBLG-*b*-PS-2 im Vergleich zum PBLG-*b*-PS-1 etwas größer sein sollte. Es kann festgehalten werden, dass in beiden Fällen kein PS-Homopolymer detektiert werden konnte.

**TIPNO:** Für die PBLG-*b*-PS Blockcopolymere hergestellt mit einem PBLG-Makroinitiator mit einer TIPNO-Endfunktion werden unterschiedliche GPC-Ergebnisse erhalten. Für PBLG-*b*-PS-5 wurde ein ähnliches Molekulargewicht mit 30000 g/mol wie der eingesetzte PBLG-Makroinitiator mit  $M_n = 32000$  g/mol bestimmt. In diesem Fall war vermutlich die makroinitiierte NMP von Styrol mit TIPNO uneffektiv und die Herstellung von Blockcopolymer nicht erfolgreich. In den Polymerisationen PBLG-*b*-PS-4 und PBLG-*b*-PS-6 konnte hingegen eine Zunahme des Molekulargewichtes zum eingesetzten Makroinitiator festgestellt werden. Bei der Bestimmung der Zusammensetzung mittels  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie wurde für die beiden Polymere PBLG-*b*-PS-4 (PBLG/PS mit 31:69) und PBLG-*b*-PS-6 (PBLG/PS mit 33:67) ein viel höherer PS-Massenanteil als theoretisch erwartet festgestellt. Der PS-Anteil ist demnach etwa doppelt so hoch wie der PBLG-Anteil. Die Polydispersitäten der Blockcopolymere liegen in einem Bereich zwischen 1,44 und 1,80. Diese hohen PD-Werte deuten auf einen unkontrollierten Charakter der Polymerisation hin. Um weitere Aussagen über die Kontrolle der makroinitiierten Polymerisation treffen zu können, ist im Folgenden das GPC-Chromatogramm des Blockcopolymers PBLG-*b*-PS-4 mit der höchsten Polydispersität von 1,80 gezeigt (Abbildung 6.17).

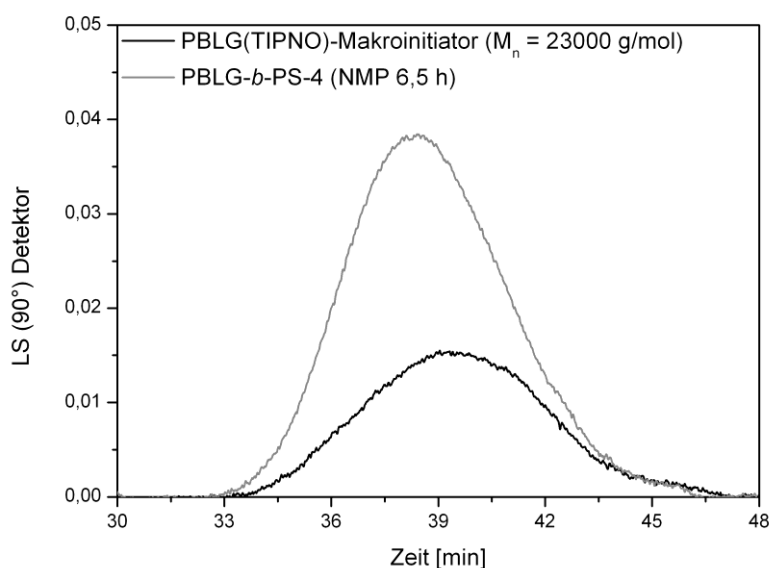


Abbildung 6.17: GPC-Chromatogramm des PBLG-*b*-PS-4 Blockcopolymers (TIPNO) nach der NMP von 6,5 h, hergestellt mit PBLG-Makroinitiator ( $M_n = 23000$  g/mol).



Es wird eine symmetrische und monomodale Verteilung erhalten. Es ist nur eine geringfügige Verschiebung zu niedrigeren Elutionszeiten des Chromatogramms des Blockcopolymers zum eingesetzten PBLG-Makroinitiator zu beobachten. Da diese Probe einen deutlich zu hohen PS-Massenanteil enthält, wird vermutet, dass Nebenreaktionen wie z.B. die Selbstinitiiierung von Styrol stattgefunden haben könnten. Solche Nebenreaktionen können zur Bildung von PS-Homopolymer führen. Ein deutlicher Hinweis auf die Bildung von PS-Homopolymer wird mittels GPC-Analytik nicht gegeben. Für einen Nachweis von zusätzlich gebildetem PS-Homopolymer neben dem Blockcopolymer wurden die Polymere mittels LACCC analysiert. Die LACCC-Chromatogramme der beiden Blockcopolymere PBLG-*b*-PS-4 und PBLG-*b*-PS-5, hergestellt mit PBLG(TIPNO)-Makroinitiator mit einem Molekulargewicht von 23000 g/mol bzw. 32000 g/mol, sind in Abbildung 6.18 dargestellt.

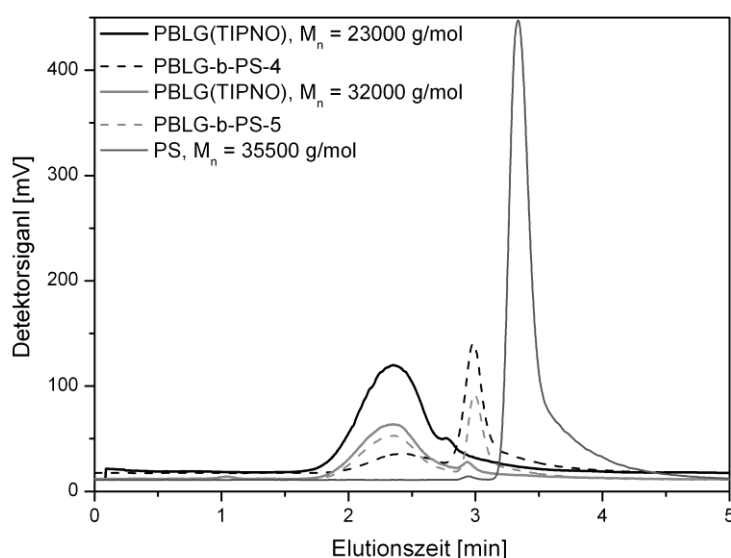


Abbildung 6.18: LACCC-Chromatogramm von PBLG-*b*-PS-4 und PBLG-*b*-PS-5, hergestellt unter Verwendung des entsprechenden PBLG(TIPNO)-Makroinitiators mit  $M_n = 23000$  g/mol bzw. 32000 g/mol.

Die Elutionskurven der beiden Polymerproben zeigen jeweils zwei Peaks, die dem PBLG-Homopolymer und dem PBLG-*b*-PS Blockcopolymer zugeordnet werden können. Die Peaks der Blockcopolymere liegen dabei deutlich getrennt vom Peak des entsprechenden PBLG-Homopolymers und weisen zudem eine hohe Intensität auf. Mit dem TIPNO-basierenden PBLG-Makroinitiator konnte somit ebenfalls ein Anteil an Blockcopolymer hergestellt werden. Entgegen der Vermutung aus der GPC-Analytik zeigt das LACCC-Chromatogramm keinen Hinweis auf die Bildung von PS-Homopolymer.

**BIPNO:** Die Ergebnisse der mittels  $^1\text{H}$ -NMR bestimmten Zusammensetzungen der beiden Polymere PBLG-*b*-PS-7 (PBLG/PS mit 23:77) und PBLG-*b*-PS-8 (PBLG/PS mit 43:57), hergestellt mit einem PBLG(BIPNO)-Makroinitiator, zeigen beide einen deutlich höheren PS-Anteil als theoretisch erwartet. Für beide Blockcopolymere PBLG-*b*-PS-7 und PBLG-*b*-PS-8, die mit zwei unterschiedlichen PBLG-Makroinitiatoren mit einem Molekulargewicht von 17000 g/mol bzw. 32000 g/mol hergestellt wurden, konnte ein ähnliches Molekulargewicht mittels GPC-MALLS mit 49000 g/mol und 50000 g/mol bestimmt werden. Die Polydispersitäten mit 1,56 und 1,60 liegen ebenfalls in einem ähnlichen Bereich und deuten auf einen wenig kontrollierten Charakter der NMP hin. Die GPC-Kurve der Probe PBLG-*b*-PS-8 (Abbildung 6.19) ist monomodal und zeigt im Vergleich zum entsprechenden Makroinitiator eine signifikante Verschiebung zu niedrigeren Elutionszeiten, was auf eine Zunahme des hydrodynamischen Volumens hinweist.

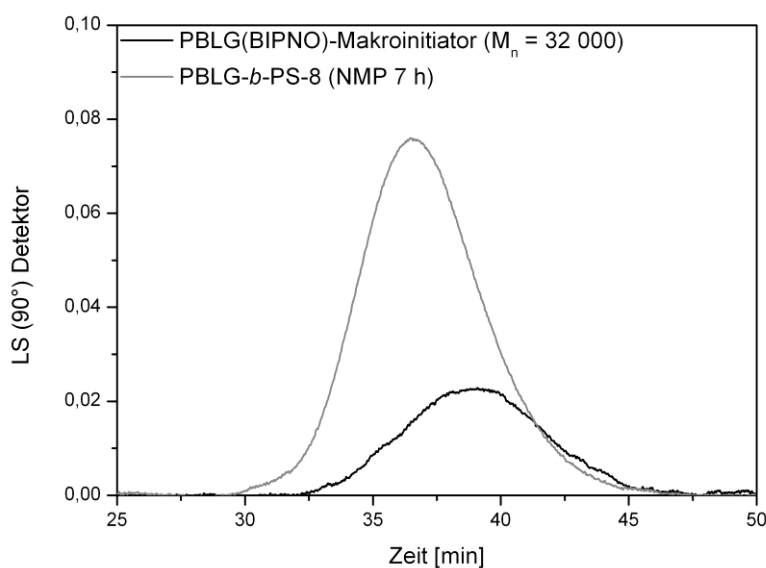


Abbildung 6.19: GPC-Chromatogramm des PBLG-*b*-PS-8 Blockcopolymers (BIPNO) nach der NMP von 7 h, hergestellt mit PBLG-Makroinitiator ( $M_n = 32000$  g/mol).

Für einen Nachweis von gebildetem Blockcopolymer und Homopolymer wurde die Probe PBLG-*b*-PS-7, hergestellt mit einem PBLG(BIPNO)-Makroinitiator mit einem  $M_n$  von 32000 g/mol, mittels LACCC untersucht. Für das Polymer PBLG-*b*-PS-7 konnte ebenfalls Blockcopolymer und PBLG-Homopolymer nachgewiesen werden. In Abbildung 6.20 ist das entsprechende Elutionschromatogramm gezeigt. Die Intensität des Peaks für PBLG-Homopolymer ist deutlich im Vergleich zum Blockcopolymer größer. Auch für diese

Polymerprobe konnte entgegen den Erwartungen aus der GPC-Analytik und der  $^1\text{H}$ -NMR-Analytik kein PS-Homopolymer detektiert werden.

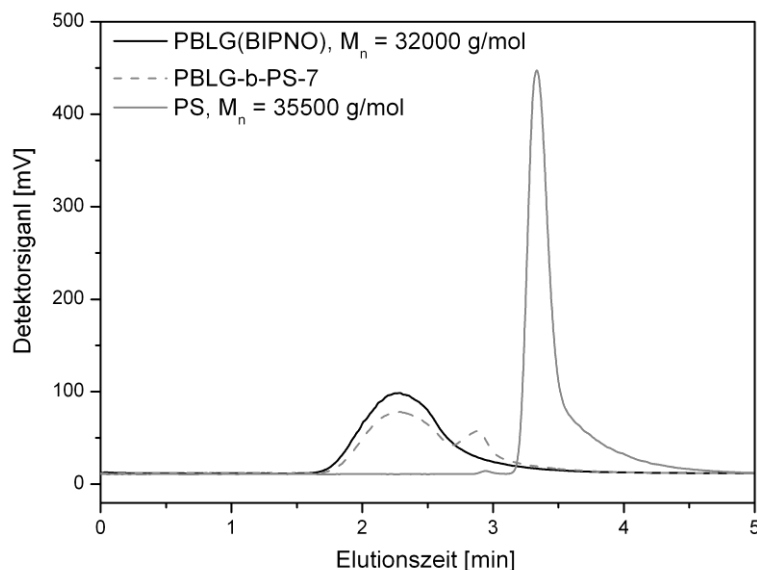


Abbildung 6.20: LACCC-Chromatogramm von PBLG-*b*-PS-7, hergestellt mit PBLG(BIPNO)-Makroinitiator mit  $M_n = 32000 \text{ g/mol}$ .

Aus den Ergebnissen aller makroinitiierten Polymerisationen von Styrol lässt sich feststellen, dass mit dem TEMPO-System eine relativ gute Übereinstimmung der mittels  $^1\text{H}$ -NMR bestimmten Zusammensetzung von PBLG zu PS zur Theorie erreicht wird. Für die beiden Systeme mit TIPNO und BIPNO wird allerdings ein deutlich höherer PS-Massenteil im Vergleich zum theoretischen Anteil bestimmt. In beiden Fällen wird die Anwesenheit von PS-Homopolymer, die durch die Selbstinitiiierung von Styrol entsteht, vermutet. Jedoch wurde in keiner Probe mittels LACCC Verunreinigungen durch PS-Homopolymer nachgewiesen. Für alle Polymere konnte mittels GPC-Analytik eine monomodale Verteilung festgestellt werden. Bei den GPC-Untersuchungen wurde beobachtet, dass das Chromatogramm des Blockcopolymers in den meisten Fällen im Vergleich zu dem des eingesetzten Makroinitiators nur geringfügig verschoben ist. Das Prinzip der GPC beruht auf der Trennung der Polymerpartikel nach dem hydrodynamischen Volumen. SCHLAAD et al.<sup>[227]</sup> erstellten computersimulierte Modelle der Stäbchen-Knäuel Blockcopolymere PS-*b*-PZLLys und PS-*b*-PBLG, um einen Eindruck der gebildeten Polymerstrukturen zu bekommen. Die Modellstrukturen zeigen, dass das hydrodynamische Volumen überwiegend vom PBLG-Block bestimmt wird und der Knäuel-Block wie eine enganliegende Kappe am Ende des

Stäbchens sitzt. Kurze PS-Blöcke können daher vermutlich mittels GPC nicht analysiert werden. Bei einem längeren PS-Block dürfte jedoch das hydrodynamische Volumen signifikant zunehmen und sollte dann in der GPC sichtbar sein. Werden diese Modelle auf die hier erhaltenen Ergebnisse der GPC angewandt, so kann daraus geschlossen werden, dass alle hergestellten Blockcopolymer ähnliche hydrodynamische Volumina haben sollten, wie der PBLG-Makroinitiator und damit zu ähnlichen Zeiten eluiert werden. In den Arbeiten von STEIG et al. konnten ähnliche Resultate festgestellt werden.<sup>[162]</sup> Aufgrund des dominierenden hydrodynamischen Volumens der stäbchenförmigen Struktur von PBLG wird daher kaum eine Verschiebung zu niedrigeren Elutionszeiten beobachtet.

Bei der Betrachtung der Entwicklung des hydrodynamischen Volumens der erhaltenen Blockcopolymer mit der Polymerisationszeit kann bereits nach mehr als 2 h keine signifikante Verschiebung des GPC-Chromatogramms mehr zu niedrigeren Elutionszeiten festgestellt werden. Exemplarisch sind in Abbildung 6.21 die GPC-Kurven des Blockcopolymer PBLG-*b*-PS-6 hergestellt mit einem PBLG(TIPNO)-Makroinitiator ( $M_n = 27000$  g/mol) nach verschiedenen Zeiten dargestellt.

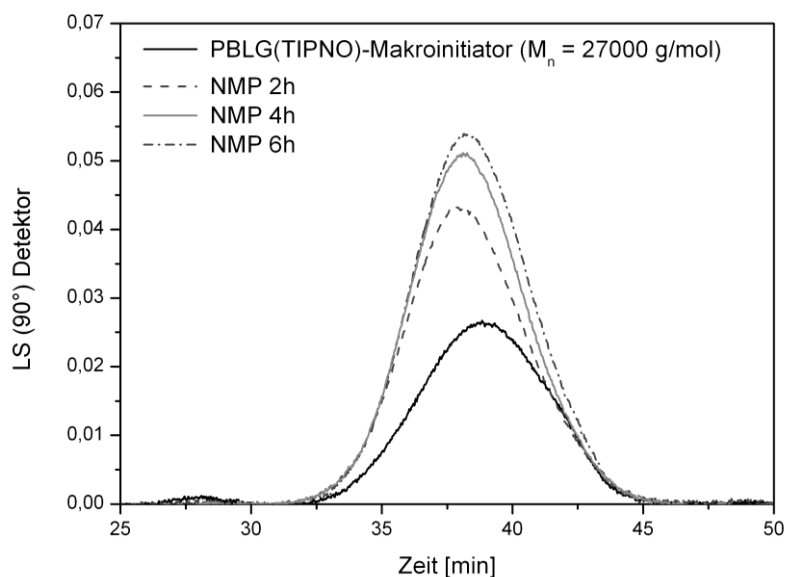


Abbildung 6.21 GPC-Chromatogramm des PBLG-*b*-PS Blockcopolymer (PBLG-*b*-PS-6) nach der NMP von 2, 4 und 6 h mit dem entsprechenden PBLG(TIPNO)-Makroinitiator ( $M_n = 27000$  g/mol).

Die Molekulargewichtsverteilungen sind alle monomodal und unterscheiden sich nur in der Höhe des Peaks. Die Elutionskurve des Polymer nach 2 h verschiebt sich zu niedrigeren Elutionszeiten, was auf die Bildung eines größeren Polymer hindeutet. Nach 4 bzw. 6 h wird keine weitere Verschiebung zu niedrigeren Elutionszeiten beobachtet. Somit scheint auch die

zunehmende Größe des Knäuel-Blocks kaum zum hydrodynamischen Volumen beizutragen. Aufgrund der zunehmenden Intensität (LS-Detektor) des Peaks im Chromatogramm kann dennoch auf die Bildung eines größer werdenden Polymers geschlossen werden.

Aus den LACCC-Messungen konnte als weiteres Ergebnis festgestellt werden, dass alle Polymere unabhängig vom eingesetzten Makroinitiator PBLG-Homopolymer und Blockcopolymer enthalten. In allen Fällen scheinen die PBLG-Makroinitiatoren nicht vollständig initiiert zu haben. Bei der Elementaranalyse (EA) der bifunktionellen Nickel-Initiatoren (Vgl. Kapitel 4.1, S.58) konnten Verunreinigungen festgestellt werden. Diese Verunreinigungen können bei der Nickel-initiierten NCA Polymerisation zur Bildung von unfunktionalisiertem PBLG geführt haben. Falls die Nitroxid-Endgruppe sich nicht quantitativ am Kettenende des PBLG befindet, kann das zu unfunktionalisiertem PBLG-Homopolymer führen.

In den Zusammensetzungen der Polymere unter Verwendung eines PBLG-Makroinitiators mit TIPNO oder BIPNO wurde ein zu hoher Anteil an PS bestimmt. Da der erhöhte PS-Massenanteil jedoch nicht aus der vermuteten Bildung von PS-Homopolymer zu resultieren scheint, wird eine Änderung der PBLG-Kettenlänge durch einen möglichen Abbau vermutet. Es wurde beschrieben, dass PBLG bei erhöhten Temperaturen ab 120 °C nicht stabil ist.<sup>[15]</sup> KNOOP et al. machten dazu Untersuchungen und konnten zeigen, dass PBLG unter NMP Bedingungen ohne Styrol (DMF, 125 °C, 5 h ) stabil bleibt.<sup>[31]</sup> Die Arbeitsgruppe führte daraufhin die PBLG-makroinitiierte Polymerisation von Styrol bis zu 12 h durch, wobei ein möglicher Abbau bei längeren Polymerisationszeiten nicht weiter untersucht wurde. In eigenen Untersuchungen konnte beobachtet werden, dass ein Abbau von PBLG nach längeren Polymerisationszeiten nicht ausgeschlossen werden kann, aber PBLG bis zu einer Polymerisationszeit von etwa 7 h ausreichend stabil bleibt. Die vorliegenden Ergebnisse der makroinitiierten Polymerisation unter Verwendung eines PBLG-Makroinitiators mit einer TIPNO oder BIPNO Endgruppe zeigen jedoch, dass die Polymerisationszeit von 7 h möglicherweise schon zu lang ist und ein Abbau von PBLG nicht mehr ausgeschlossen werden kann.

### 6.2.4 Zusammenfassung

Die Synthese von Polystyrol unter den Bedingungen der kontrolliert radikalischen Polymerisationsmethode NMP initiiert durch die Vorstufe des bifunktionellen Initiators **33** mit variierenden Nitroxidgruppen TEMPO, TIPNO und BIPNO war erfolgreich. In Kinetikuntersuchungen mittels GC-Messungen wurde der kontrollierte Charakter der NMP untersucht. Es konnte ein Einfluss der Nitroxidgruppe auf die Kinetik festgestellt werden. Alle verwendeten Systeme zeigen einen linearen Zusammenhang zwischen  $\ln([M]_0/[M]_t)$  und der Zeit, unterscheiden sich aber in der Polymerisationsgeschwindigkeit (TEMPO < TIPNO < BIPNO). Das System Styrol/BIPNO zeichnet sich durch seine hohe Polymerisationsgeschwindigkeit aus, was zu hohen Umsätzen in kurzer Polymerisationszeit führt. Zudem werden mit diesem System sehr enge Molekulargewichtsverteilungen und kontrollierbare Molekulargewichte erhalten.

Die PBLG-makroinitiierte NMP von Styrol unter Verwendung der verschiedenen Nitroxid-Endgruppen TEMPO, TIPNO und BIPNO wurde ebenfalls mittels GC-Messungen auf ihren kontrollierten Charakter untersucht. Der Polymerisationsverlauf zeigt für alle drei Systeme einen linearen Zusammenhang zwischen  $\ln([M]_0/[M]_t)$  und der Zeit. Eine Abweichung vom linearen Verhalten ab einer Polymerisationszeit von 4 h bzw. 5 h wird nur mit den Systemen TEMPO und TIPNO beobachtet. Zudem wird die Polymerisationsgeschwindigkeit durch das Molekulargewicht des PBLG-Makroinitiators beeinflusst. Mit einem kleinen Molekulargewicht wird eine höhere Polymerisationsgeschwindigkeit als mit einem größeren Molekulargewicht erreicht. Ein Einfluss der Nitroxid-Endgruppe auf die Kinetik wird nicht festgestellt.

Bei der Charakterisierung der PBLG-*b*-PS Blockcopolymere wurden die Grenzen der GPC-Analytik für diese Art Proben deutlich. Es wurden für alle erhaltenen Polymere monomodale Verteilungen erhalten, die sich nur geringfügig in ihrem hydrodynamischen Volumen vom PBLG-Homopolymer unterscheiden. Die genauen Zusammensetzungen konnten mittels  $^1\text{H-NMR}$  bestimmt werden. Für die TIPNO und BIPNO basierenden Systeme wurde ein deutlich höherer PS-Anteil als theoretisch erwartet bestimmt. Ein Nachweis von vermutetem PS-Homopolymer konnte mittels LACCC nicht bestätigt werden. Der ermittelte erhöhte PS-Massenanteil bei den TIPNO und BIPNO Systemen wird durch einen möglichen Abbau von PBLG begründet. Bei der Untersuchung der chemischen Zusammensetzung der Polymere

wurde neben Blockcopolymer auch PBLG-Homopolymer detektiert. Hier kann von einer unvollständigen Endfunktionalisierung am PBLG ausgegangen werden. Für die Herstellung von peptidhaltigen Stäbchen-Knäuel Blockcopolymeren müssen allerdings noch weitere Untersuchungen erfolgen. Um Aussagen über die absoluten Molekulargewichte der Blockcopolymere machen zu können, müsste zunächst das Blockcopolymer vom Homopolymer befreit werden. Des Weiteren sollte die Synthese von Stäbchen-Knäuel Blockcopolymer durch Änderung der Parameter (z.B. Temperatur, PBLG-Kettenlänge,  $[M]/[I]$ -Verhältnis, Polymerisationszeit) optimiert werden. Auch könnte die Verwendung von effektiveren Nitroxiden, die bei niedrigeren Temperaturen eingesetzt werden können, dazu beitragen, einen möglichen Abbau von PBLG bei hohen Temperaturen zu umgehen.

### 6.3 kontrollierte Polymerisation von *tert*-Butylacrylat

Als weiteres Monomer soll das *tert*-Butylacrylat (tBA) in der PBLG-makroinitiierten NMP eingesetzt werden. Poly(*tert*-Butylacrylat) (PtBA) kann durch die Entwicklung von Nitroxiden mit sterisch anspruchsvollen Gruppen (z.B. TIPNO, BIPNO) mit der kontrollierten Polymerisationstechnik NMP wohldefiniert hergestellt werden.<sup>[215, 228]</sup> Zudem ist PtBA leicht unter hydrolytischen Bedingungen in die Poly(acrylsäure) (PAA) überführbar. Eine spezielle Klasse von peptidhaltigen Blockcopolymeren sind die doppelt-hydrophilen Blockcopolymere (DHBCs), die besondere Eigenschaften bei der Bildung von Mizellen im wässrigen Medium zeigen.<sup>[118, 121]</sup> Das PBLG-*b*-PtBA Blockcopolymer stellt daher eine interessante Vorstufe der DHBCs dar. Bei einer Hydrolyse werden sowohl der PBLG- als auch der PtBA-Block hydrolysiert und es wird PLGA-*b*-PAA erhalten. In dieser Arbeit soll die Synthese von PBLG-*b*-PtBA als Vorstufe der doppelt-hydrophilen Blockcopolymere beschrieben werden. Dazu werden im Folgenden erste Untersuchungen der PBLG-makroinitiierten NMP von tBA vorgestellt. Für die Untersuchungen soll ein PBLG-Makroinitiator mit BIPNO als Nitroxid-Endgruppe eingesetzt werden. Hierbei soll diskutiert werden, ob die PBLG-makroinitiierte NMP von tBA kontrolliert verläuft und ob sich dadurch ein PtBA-Block realisieren lässt.

#### 6.3.1 PBLG-makroinitiierte NMP von *tert*-Butylacrylat

Die Synthese des Blockcopolymers PBLG-*b*-PtBA erfolgte über eine PBLG-makroinitiierte NMP von *tert*-Butylacrylat in DMF bei einer Polymerisationstemperatur von 125 °C (Abbildung 6.22). Um eine optimale Kontrolle bei der NMP von *tert*-Butylacrylat zu erhalten, wurde in Anlehnung an den Ergebnissen von BENOIT et al. dem Polymerisationssystem jeweils 5 mol % BIPNO **4** als freies Nitroxid zugesetzt.<sup>[215]</sup> Die durchgeführte NMP verläuft nicht nach einem unimolekularen, sondern nach einem bimolekularen Mechanismus.<sup>[169, 215]</sup> Studien ergaben, dass sich durch die Zugabe von freiem Nitroxid eine bessere Kontrolle bei der Polymerisation von Acrylaten erzielen lässt. Aufgrund der hohen Wachstumsgeschwindigkeit von tBA wird dadurch ein unkontrollierter Start vermieden.<sup>[215, 228]</sup>



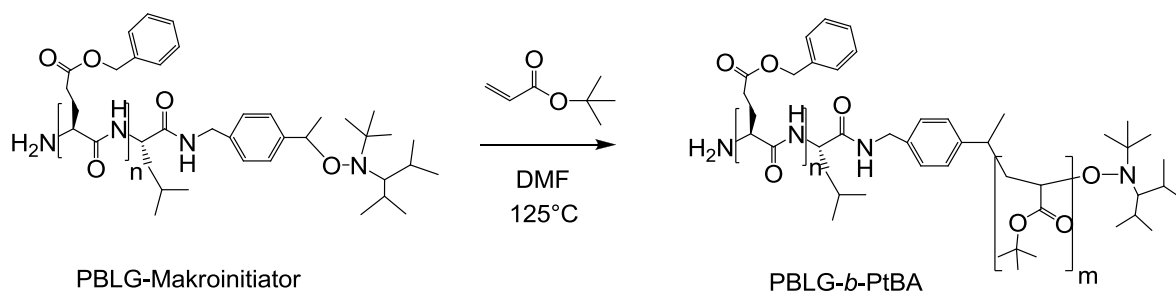


Abbildung 6.22: PBLG-makroinitiierte NMP von tBA in abs. DMF (50 wt %) bei 125 °C.

Wie bei der makroinitiierten NMP von Styrol werden kurze Polymerisationszeiten gewählt (Vgl. Kapitel 6.2.2), um einen möglichen Abbau von PBLG zu umgehen. Tabelle 6.4 beinhaltet die eingestellten  $[M]/[I]$ -Verhältnisse und die Ergebnisse der ersten Untersuchungen.

Tabelle 6.4: Mittels GPC-MALLS in DMF bestimmte  $M_n$  und PD der PBLG-*b*-PS Blockcopolymeren im Bezug zum  $M_{n(\text{theo.})}$ .

Polymer	$[M]/[I]$	$M_{n(\text{GPC})}$ [g/mol] (PBLG)	PD (PBLG)	$M_{n(\text{theo.})}$ [g/mol] (PtBA)	$M_{n(\text{GPC})}$ [g/mol] (Block)	PD (Block)	Zeit [h]	Umsatz [%]
PBLG- <i>b</i> -PtBA-1 <sup>M</sup>	210	8000	1,05	27000	16000	1,09	5	-
PBLG- <i>b</i> -PtBA-2 <sup>E</sup>	340	18000	1,46	24000	50000	1,38	5	55*
PBLG- <i>b</i> -PtBA-3	340	22000	1,12	40000	39000	1,27	4,5	93 <sup>§</sup>

\* Umsatzbestimmung erfolgte mittels Gravimetrie.

§ Umsatzbestimmung erfolgte mittels Gaschromatographie.

Bei der Polymerisation von tBA wurde das Molekulargewicht des PBLG-Makroinitiators sowie das  $[M]/[I]$ -Verhältnis variiert. Im Vergleich zum eingesetzten Makroinitiator konnten stets größere Molekulargewichte  $M_{n(\text{GPC})}$  für die erhaltenen Blockcopolymeren bestimmt werden. Es gibt keine Übereinstimmung des erwarteten Molekulargewichtes unter Einbeziehung des Umsatzes mit dem experimentell bestimmten Molekulargewicht. Die Polydispersitäten liegen mit 1,09 bis 1,38 allerdings im Bereich der kontrollierten Polymerisation. Bei der Umsatzbestimmung unter Verwendung des eingestellten  $[M]/[I]$ -Verhältnisses von 340 ist eine deutliche Diskrepanz festzustellen. Es konnte beobachtet werden, dass die Blockcopolymeren bei der Polymeraufarbeitung bei der Fällung Probleme bereiteten, was eine fehlerhafte Umsatzbestimmung zufolge hat.

<sup>M</sup> Die Polymerisationen wurden im Rahmen eines Vertiefungspraktikums von Christoph Hadler durchgeführt.

Die Kinetikmessung (PBLG-*b*-PtBA-3) zeigt einen linearen Zusammenhang von  $\ln([M]_0/[M]_t)$  mit der Zeit (Abbildung 6.23). Die Geschwindigkeit nimmt aber ab 2,5 h langsam ab und erreicht bis zu diesem Zeitpunkt schon einen Umsatz von 85 %. Die Wachstumsgeschwindigkeit von PtBA ist sehr hoch. Die Zugabe des Nitroxids scheint keinen Einfluss auf die Polymerisationsgeschwindigkeit zu haben. Es ist davon auszugehen, dass unter diesen Bedingungen keine Kontrolle über den gesamten Polymerisationsverlauf erreicht werden kann.

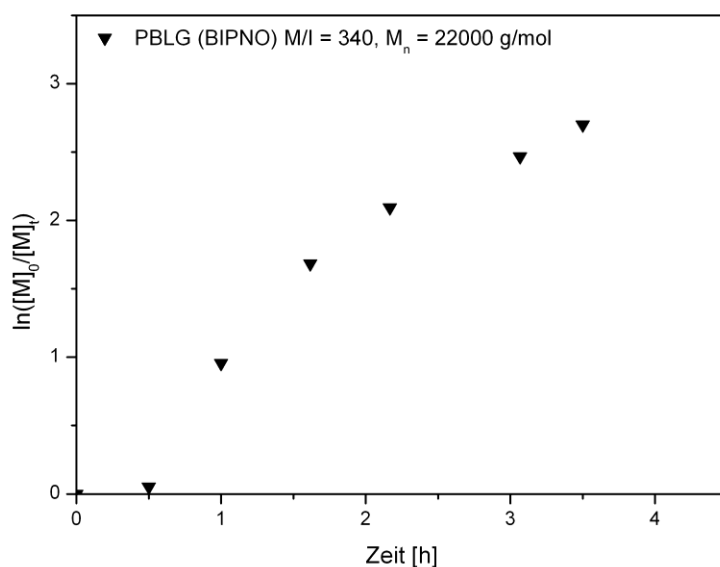


Abbildung 6.23: Auftragung von  $\ln([M]_0/[M]_t)$  gegen die Zeit der PBLG-makroinitiierten NMP von tBA mit BIPNO (PBLG-*b*-PtBA-3).

Die Chromatogramme der PBLG-*b*-PtBA Blockcopolymeren und der eingesetzten PBLG-Makroinitiatoren sind in Abbildung 6.24 mit LS-Detektion (90 °) dargestellt. Es kann für PBLG-*b*-PtBA-1 und PBLG-*b*-PtBA-2 eine signifikante Verschiebung des Peaks zu niedrigeren Elutionszeiten beobachtet werden, was auf eine Zunahme des hydrodynamischen Volumens hindeutet. Die Molekulargewichtsverteilung von PBLG-*b*-PtBA-2 ist monomodal und symmetrisch. Die Polydispersität (PD) beträgt 1,38. Im Vergleich dazu weist das Polymer PBLG-*b*-PtBA-1 eine sehr enge Molekulargewichtsverteilung mit einer PD von 1,09 auf. Im hochmolekularen Bereich kann jedoch ein Tailing beobachtet werden, was aber die Berechnung der GPC-Daten mithilfe des Auswerteprogramms nicht beeinträchtigt hat. Eine Abweichung von einer monomodalen und symmetrischen Verteilung kann durch Nebenreaktionen bzw. Abbruchreaktionen im System verursacht werden und sollte dann

dementsprechend in einer höheren Polydispersität resultieren. Eine mögliche Nebenreaktion ist die Selbstinitiiierung des *tert*-Butylacrylats (tBA), die zur Bildung neuer initiiierenden Spezies führt.<sup>[229]</sup> Auch können  $\beta$ -Kettenspaltungsreaktionen oder *Backbiting*-Reaktionen als weitere Nebenreaktionen auftreten.<sup>[230]</sup>

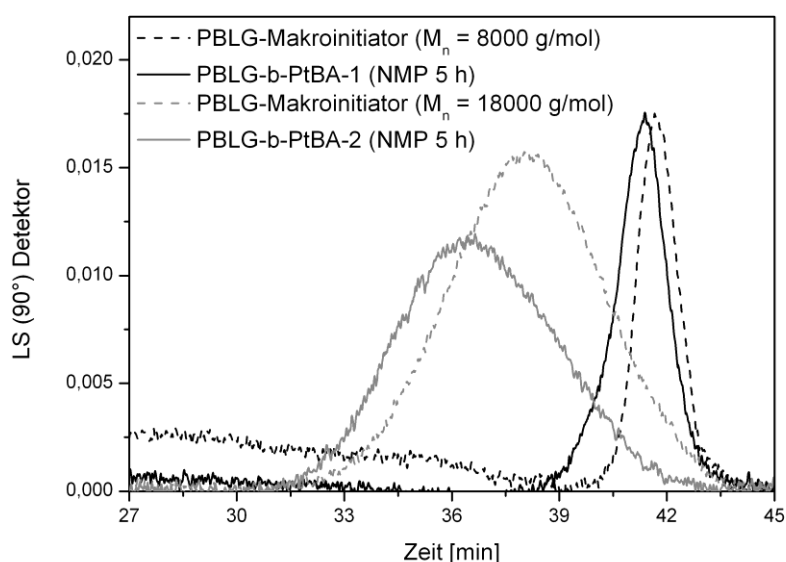


Abbildung 6.24: GPC-Chromatogramme der PBLG-*b*-PtBA Blockcopolymeren (PBLG-*b*-PtBA-1 und PBLG-*b*-PtBA-2) zum entsprechenden PBLG-Makroinitiator.

Die mittels GPC-Analyse aufgenommenen Messwerte für das Molekulargewicht und die Polydispersität können fehlerbehaftet sein, da ein relativ starkes Rauschen das LS-Detektorsignal überlagert. Die Auswertung der GPC-Daten resultiert in hohe Standardabweichungen. Um einen zusätzlichen Hinweis auf die Qualität der erhaltenen GPC-Messwerte zu bekommen, wurde sowohl über die GPC- als auch über die  $^1\text{H}$ -NMR-Daten die Zusammensetzung der Blockcopolymeren bestimmt und miteinander verglichen (Tabelle 6.5). Die Zusammensetzung mittels  $^1\text{H}$ -NMR wurde über das Verhältnis des Integrals der Methylenprotonen des PBLG zum Integral der *tert*-Butoxy-Protonen des PtBA bestimmt. Für alle synthetisierten Blockcopolymeren stimmen die über beide Analysemethoden ermittelten Zusammensetzungen gut überein. Den aufgenommenen GPC-Daten kann also doch eine ausreichende Genauigkeit zugesprochen werden.

Tabelle 6.5: Zusammensetzung der PBLG-*b*-PtBA Blockcopolymeren bestimmt mittels GPC-MALLS und  $^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ ).

Polymer	$M_{n(\text{GPC})}$ [g/mol] ( <i>Block</i> )	PBLG : PtBA (GPC)	PBLG : PtBA ( $^1\text{H}$ -NMR)
PBLG- <i>b</i> -PtBA-1	16000	50:50	55:45
PBLG- <i>b</i> -PtBA-2	50000	36:64	33:66
PBLG- <i>b</i> -PtBA-3	39000	56:44	47:53

Um den kinetischen Verlauf der Polymerisation eindeutig aufzuklären, müssen für die PBLG-makroinitiierte NMP von tBA mit PBLG-Makroinitiator noch weitere Untersuchungen erfolgen. Die Ergebnisse aus der Kinetikmessung zeigen eine hohe Wachstumsgeschwindigkeit, die durch die Zugabe des Nitroxids nicht herabgesenkt werden konnte. Daher sollten in weiteren Untersuchungen die Polymerisationsbedingungen durch Änderung der Lösungsmittelmenge, Temperatur sowie der Effekt der Zugabe des freien Nitroxids optimiert werden.<sup>[231]</sup>

Die Ergebnisse der ersten Untersuchungen zeigen, dass Polymere mit teilweise monomodalen Verteilungen und niedrigen PDs erhalten werden. Zudem kann eine signifikante Verschiebung des Chromatogramms für Blockcopolymer beobachtet werden, was auf eine Zunahme des Molekulargewichtes hinweist. Für eine abschließende Bewertung der PBLG-makroinitiierten NMP von tBA fehlt jedoch ein endgültiger Nachweis von gebildetem Blockcopolymer. Mittels LACCC könnte neben Blockcopolymer auch vorhandenes PtBA-Homopolymer nachgewiesen werden. Diese Methode stand für diese Messungen nicht zur Verfügung.

## 7 Synthese und Charakterisierung von PBLG-Bürsten

In dieser Arbeit soll die Synthese von PBLG-haltigen Pfropfcopolymeren, die auch PBLG-Bürsten genannt werden, über den „*grafting-onto*“-Ansatz erfolgen. Als effektive Kupplungsstrategie findet die Cu(I)-katalysierte Azid-Alkin Cycloaddition (CuAAC)<sup>[232]</sup> Einsatz, welche bereits für die Darstellung von PBLG-haltigen Sternen erfolgreich genutzt werden konnte (Vgl. Kapitel 5). Dabei soll PBLG als Seitenkette mit entsprechender Endfunktion an ein definiertes Rückgrat gekuppelt werden. Der große Vorteil des Ansatzes liegt in der genauen Kenntnis über die Länge der Seitenkette und des Rückgrats, was die Charakterisierung der resultierenden Bürsten wesentlich erleichtert. Bei der Synthese von Polymerbürsten ist durch die abstoßenden Wechselwirkungen der Seitenketten untereinander ein Einfluss auf die Pfropfdichte zu erwarten.<sup>[145]</sup> Ebenfalls spielen die sterischen Effekte bei der Synthese von PBLG-Bürsten mit einer hohen Dichte an PBLG-Seitenketten eine große Rolle. Diese Effekte sollen durch Variation der Länge der PBLG-Seitenkette sowie die Länge des Rückgrats näher untersucht werden.

PBLG ist in der Lage in Lösung und in fester Phase Sekundärstrukturen ( $\alpha$ -Helix und  $\beta$ -Faltblatt) auszubilden.<sup>[16]</sup> Ob aufgrund der strukturellen Eigenschaften eine hohe lokale Dichte an PBLG-Ketten dazu führt, dass die Ausbildung der Sekundärstruktur beeinflusst wird, soll durch Änderung der Parameter wie die Länge der Seitenkette und die Pfropfdichte geklärt werden. Ebenfalls soll der Einfluss der Pfropfcopolymere nach Entfernung der Schutzgruppe auf die Stabilität der  $\alpha$ -helicalen Konformation im wässrigen Medium sowie der pH-abhängige Helix-Knäuel Übergang der Poly(L-glutaminsäure) (PLGA) untersucht werden.

In diesem Kapitel soll zunächst die Synthese von wohldefinierten PBLG-Bürsten beschrieben werden. Zudem soll der Einfluss der oben genannten Parameter auf die Pfropfdichte, die Ausbildung der Sekundärstrukturen in Lösung und die charakteristische Topologie der PBLG-Bürsten untersucht werden.

## 7.1 „grafting-onto“-Ansatz

Die „grafting-onto“-Methode für die Synthese molekularer Polymerbürsten wurde erstmals von GAO et al. beschrieben.<sup>[233]</sup> Das Erreichen von hohen Pfropfdichten durch Kupplungsreaktionen ist aus sterischen Gründen gewöhnlich begrenzt. Mithilfe der „Click-Chemie“ ist es nun möglich diese Limitierung zu umgehen. In Abhängigkeit von der chemischen Struktur und des Molekulargewichtes einer flexiblen Seitenkette konnte eine Pfropfdichte von 88,4 % erreicht werden.<sup>[233]</sup> HAMMOND et al. verwendeten ebenfalls flexible Polymere als Seitenketten, aber mit Poly( $\gamma$ -propargyl-L-glutamat) (PPLG) ein starres anstatt eines flexiblen Rückgrats und steigerten dadurch die Pfropfdichte auf 98,9 %.<sup>[75]</sup> Auch TANG et al. verwendeten PPLG als starres Rückgrat und führten sterisch anspruchsvollere Seitenketten wie flexible Blockcopolymere ein.<sup>[76]</sup> Abhängig von der Länge der Seitenkette konnte eine Pfropfdichte zwischen 82 % und 93 % erreicht werden. In dieser Arbeit soll eine möglichst hohe Dichte an PBLG-Ketten erzeugt werden, was über den vielversprechenden „grafting-onto“-Ansatz für die Darstellung von PBLG-Bürsten gelingen soll. Hierbei wird jedoch ein zur eben beschriebenen Literatur entgegengesetzter Ansatz verfolgt. Als Rückgrat wird ein flexibles Polymer mit definierter Anzahl an funktionellen Gruppen und PBLG als starre Seitenkette eingesetzt. Aufgrund der  $\alpha$ -helicalen Konformation wird PBLG als starres Stäbchenpolymer betrachtet. Mithilfe der CuAAC soll nun PBLG als starre Seitenkette ans Rückgrat mit einer angestrebten hohen Kupplungseffektivität eingeführt werden.

### 7.1.1 Synthese von PVBAz als Polymerrückgrat

Als Rückgrat soll ein auf Polystyrol basierendes Derivat, funktionalisiert mit Azid-Gruppen, als flexibles Polymer eingesetzt werden. Die kontrollierte Polymerisation von Styrol und Styrol-ähnlichen Derivaten gelingt mittels Nitroxid-vermittelter radikalischer Polymerisation (NMP) und ist bereits gut untersucht.<sup>[169]</sup> Die NMP wird im Allgemeinen mit Alkoxyaminen als unimolekulare Initiatoren durchgeführt. Die Synthese des Alkoxyamins basierend auf BIPNO **4** erfolgt nach der Methode nach DAO et al. (Vgl. Kapitel 6.1.1, S.94).<sup>[173]</sup> Ausgehend von 4-Vinylbenzylchlorid (VBC) wird über eine Reaktion mit dem Jacobsen-Katalysator BIPNO **4** als Nitroxid-Gruppe eingeführt. Die Synthesestufe **30** wird anschließend säulenchromatographisch an Kieselgel gereinigt. Die Polymerisation von VBC als Monomer wird in THF (50 Vol. %) bei 125 °C in Gegenwart des Initiators **30** für 4 h durchgeführt. Über das [M]/[I]-Verhältnis erfolgt die Einstellung des Molekulargewichtes. Nach Abbruch der

Reaktion wird Poly(4-vinylbenzylchlorid) (PVBC) in Methanol ausgefällt und noch einmal aus THF umgefällt. Das Molekulargewicht von PVBC wird mithilfe der GPC gegen Polystyrolstandards bestimmt. Anschließend erfolgt für die Umsetzung zum Poly(4-vinylbenzylazid) (PVBAz) im letzten Schritt die Substitution von Chlorid durch Azid mit einem Überschuss an  $\text{NaN}_3$  (3 eq.). Der Syntheseweg von PVBAz ist in Abbildung 7.1 dargestellt.

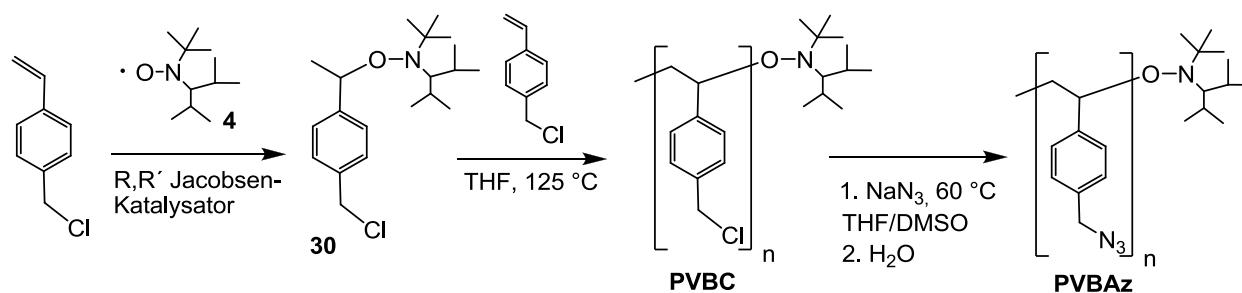


Abbildung 7.1: NMP von VBC bei 125 °C in Gegenwart von **30** als unimolekularer Initiator mit anschließender Substitutionsreaktion mit  $\text{NaN}_3$  zur Herstellung von PVBAz.

Zur Überprüfung einer erfolgreichen Substitution wurden die Polymere mittels  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie charakterisiert. Zusätzlich wurden die Molekulargewichte mittels GPC-Analytik bestimmt. In Tabelle 7.1 sind die eingestellten  $[\text{M}]/[\text{I}]$ -Verhältnisse, die Ergebnisse der NMP von VBC sowie die experimentell bestimmten Molekulargewichte von PVBC und PVBAz zusammengefasst.

Tabelle 7.1: Ansätze und Umsätze der NMP von VBC bei 125 °C in THF und Ergebnisse der GPC-Analytik von PVBC und PVBAz.

Polymer	$[\text{M}]/[\text{I}]$	Umsatz [%]	$M_{n(\text{theo})}$ [g/mol]	<i>PVBC</i> <sup>*</sup>		Polymer	<i>PVBAz</i> <sup>#</sup>	
				$M_{n(\text{GPC})}/P_n$	PD		$M_{n(\text{GPC})}/P_n$	PD
PVBC-1	16	91	2300	3200 / 21	1,16	PVBAz-1	2700 / 17	1,05
PVBC-2	33	85	4300	5000 / 33	1,15	PVBAz-2	6400 / 40	1,06

\* Die Molekulargewichtsbestimmung erfolgte mit der Kalibrierung mit PS-Standards in THF

# Bestimmung von  $M_n$  und PD erfolgte mittels GPC-MALLS Analytik mit DMF als Lösungsmittel

Nach einer Polymerisationsdauer von 4 h konnten die Polymere PVBC-1 und PVBC-2 in hohen Umsätzen mit 91 % und 85 % erhalten werden. Die experimentell bestimmten Molekulargewichte weichen etwas von den theoretisch erwarteten Molekulargewichten ab. Der Unterschied kann mit den unterschiedlichen hydrodynamischen Volumina von PS-Standards und PVBC erklärt werden. Die bestimmten Polydispersitäten mit 1,16 und 1,15 deuten auf einen kontrollierten Charakter der NMP hin. Die vollständige Umsetzung des

PVBC zu PVBAz durch eine einfache Substitutionsreaktion konnte mittels  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie bestätigt werden. Die Molekulargewichte der beiden Polymere PVBAz-1 und PVBAz-2 konnten aufgrund der guten Verträglichkeit mit dem Säulenmaterial mit der GPC-MALLS-Analytik in DMF bestimmt werden. Es konnte ein Polymerisationsgrad von 17 (PVBAz-1, 2700 g/mol) bzw. 40 (PVBAz-2, 6400 g/mol) erhalten werden. Die ermittelten Polydispersitäten liegen bei 1,05 und 1,06. Da es sich hierbei um eine polymeranaloge Reaktion handelt, sollte sich der Polymerisationsgrad nicht ändern. Die Diskrepanz kann mit der verwendeten GPC-Analytik begründet werden. Eine absolute Molekulargewichtsbestimmung ist nur mittels GPC-MALLS möglich. Voraussetzung dafür ist die genaue Kenntnis des Brechungsindexinkrements ( $dn/dc$ ), welcher hier experimentell mithilfe der Messung einer Konzentrationsreihe des entsprechenden Polymers gelöst in DMF am Refraktometer bestimmt wurde.<sup>N</sup> Daher kann den ermittelten Werten für PVBAz eine genügende Genauigkeit zugesprochen werden. Zudem kann bei polymeranalogen Reaktionen die Polymeraufarbeitung (Ausfällen, Umfällen) dazu führen, dass die Polymere fraktioniert werden und sich dadurch der Polymerisationsgrad ändert. In Abbildung 7.2 sind die Chromatogramme der beiden Polymere PVBAz-1 und PVBAz-2 mit dem LS-Detektorsignal (links) und dem RI-Detektorsignal (rechts) dargestellt.

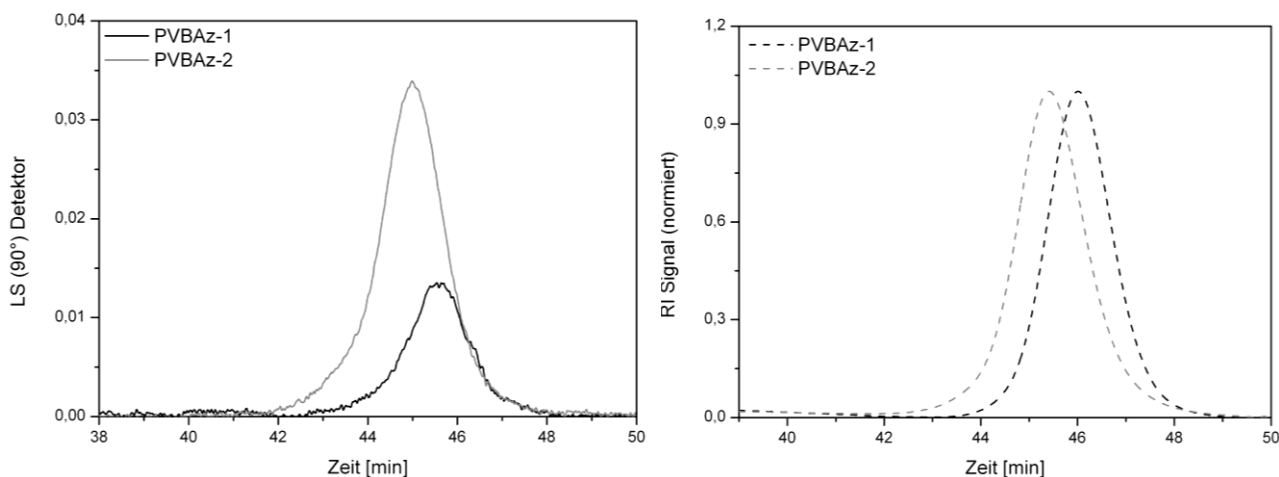


Abbildung 7.2: GPC-Chromatogramm von PVBAz-1 und PVBAz-2 mit LS-Detektion (links) und RI-Detektion (rechts.)

Beide Molekulargewichtsverteilungen sind eng und monomodal. Insgesamt kann von einer kontrolliert ablaufenden Polymerisation gesprochen werden. Somit konnten zwei Polymere

<sup>N</sup> Der experimentell bestimmte  $dn/dc$  für PVBAz beträgt 0,171 g/L (60 °C).



als Rückgrat mit unterschiedlichem Polymerisationsgrad ( $P_n$ ) und definierter Anzahl an Azidgruppen hergestellt werden.

### 7.1.2 Voruntersuchungen zur Synthese von PBLG-Bürsten

Für die Synthese von PBLG-Bürsten wurde propargyl-endfunktionalisiertes PBLG-Makromonomer (MM) als Seitenkette mit PVBAz als Rückgrat über die Kupfer(I)-katalysierte Alkin-Azid Cycloaddition umgesetzt. Propargyl-endfunktionalisiertes PBLG wurde mittels amin-initiiert NCA Polymerisation hergestellt. Die PBLGs wurden in einem Molekulargewichtsbereich von 3400 g/mol bis 10700 g/mol und einer PD zwischen 1,02 bis 1,19 hergestellt (Kapitel 4.1.2, Tabelle 4.3, S.66). Das Vorhandensein der Propargyl-Endgruppe konnte mittels MALDI-ToF-Messungen bestätigt werden (s. Abbildung 4.13, S.72). Als Katalysatorsystem für die CuAAC wird Cu(I)Br und PMDETA in einem Verhältnis von 1:1 verwendet.<sup>[132]</sup> Die Kupplungsreaktion wurde für 24 h bei Raumtemperatur unter Stickstoffatmosphäre in DMF als Lösungsmittel durchgeführt. Für die Entfernung des Katalysators wurde die Polymerisationslösung anschließend über eine Alox-Säule gegeben. Die Isolation der Polymere erfolgte durch Fällern in Diethylether. In Abbildung 7.3 ist der Syntheseweg der PBLG-Bürsten dargestellt.

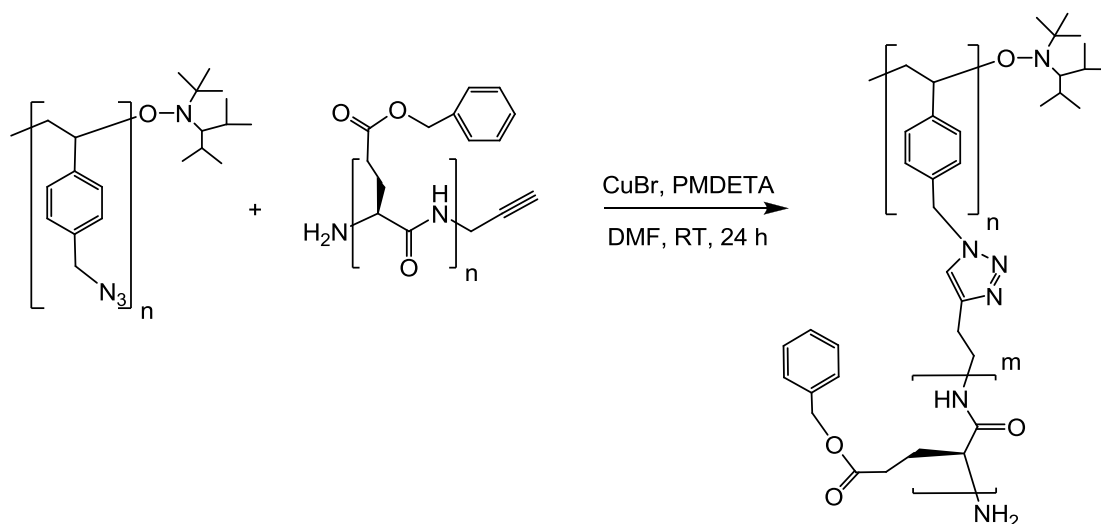


Abbildung 7.3: Darstellung der PBLG-Bürsten über die CuAAC mit propargyl-endfunktionalisiertem PBLG und azid-funktionalisiertes PVBAz als Rückgrat für 24 h bei Raumtemperatur in DMF.

Um das für die Synthese von PBLG-Bürsten mit hohen Pfropfdichten geeignete Verhältnis von Azid/Propargyl zu finden, wurden Voruntersuchungen durchgeführt. Dafür wurden verschiedene stöchiometrische Verhältnisse eingestellt und die Molekulargewichte der

resultierenden Polymere mittels GPC-MALLS bestimmt. Für eine bessere Vergleichbarkeit der verschiedenen Ansätze wurden PBLGs mit einem relativ ähnlichen Molekulargewicht von 4200 g/mol bzw. 4400 g/mol eingesetzt. Die Ergebnisse der Kupplungsreaktionen sind in der Tabelle 7.2 zusammengefasst.

Tabelle 7.2: GPC-Ergebnisse der Synthese von PBLG-Bürsten mit verschiedenen molaren Verhältnissen von Azid zu Propargyl.

<i>Ansatz</i>	<i>PBLG<sub>MM</sub></i>	<i>PVBaz</i>	$n_{\text{Azid}} /$	<i>PVBaz-g-PBLG</i>		$Y_{\text{Pfpfddichte}}$	<i>Beobachtung</i>
	$M_n / P_n$	$P_n$	$n_{\text{Propargyl}}$	$M_n(\text{GPC})$	PD	[%] <sup>#</sup>	
PVBaz-g-PBLG-1	4200 / 19	17	1:1	147000	1,45	(> 100)	Stark geliert
PVBaz-g-PBLG-2	4200 / 19	40	1:1	273000	1,48	(> 100)	Stark geliert
PVBaz-g-PBLG-3	4200 / 19	17	2:1	74000	1,19	100	Etwas geliert
PVBaz-g-PBLG-4	4200 / 19	40	2:1	138000	1,42	78	Stark geliert
PVBaz-g-PBLG-5	4400 / 20	40	1,5:1	136000	1,12	74	Etwas geliert

<sup>#</sup> Berechnung der Pfpfddichte:  $Y = M_n(\text{PVBaz-g-PBLG}) - M_n(\text{PVBaz}) / (M_n(\text{PBLG}) \times 100) / P_n(\text{PVBaz})$

Bei einem eingestellten stöchiometrischen Verhältnis von Azid/Propargyl von 1:1 wurde nach einer Reaktionsdauer von 24 h eine stark viskose Lösung beobachtet, die für die Ausfällung des Polymers verdünnt werden musste. Bei der Polymeraufarbeitung konnte festgestellt werden, dass die Polymere mit starker Gelbildung eine besonders lange Lösungsdauer von mehreren Stunden benötigten. Für die beiden resultierenden Polymere aus PVBaz-g-PBLG-1 und PVBaz-g-PBLG-2 wurde mittels GPC-MALLS ein Molekulargewicht von 147000 g/mol bzw. 273000 g/mol bestimmt. Die Molekulargewichte sind sehr hoch und führen bei der entsprechenden Berechnung zu einer Pfpfddichte von deutlich über 100 %. Es muss davon ausgegangen werden, dass die Polymere aggregiert vorliegen, da unrealistisch hohe Molekulargewichte und Pfpfddichten bestimmt wurden. Wird das stöchiometrische Verhältnis von Azid/Propargyl auf 2:1 erhöht, kann für das Polymer aus PVBaz-g-PBLG-3 bei Verwendung des PVBaz mit einem Polymerisationsgrad ( $P_n$ ) von 17 ein besseres Lösungsverhalten beobachtet werden. Das Polymer liegt in DMF makroskopisch sichtbar gelöst vor. Es konnte ein Molekulargewicht von 74000 g/mol bestimmt werden und die niedrige Polydispersität mit 1,19 gibt einen Hinweis auf ein einheitlich gebildetes Polymer. Allerdings ist die Pfpfddichte mit ca. 100 % höher als erwartet und lässt daher ebenfalls eine Aggregation der Polymerketten vermuten. Für den Einsatz von PVBaz mit einem  $P_n$  von 40 für die Synthese der PBLG-Bürsten ist ein eingestelltes Verhältnis von Azid/Propargyl mit 1,5:1 am besten geeignet. Das Polymer aus PVBaz-g-PBLG-5 ist ebenfalls schnell löslich

und besitzt ein Molekulargewicht von 136000 g/mol, was einer Pfropfdichte von 74 % entspricht. Die GPC-Chromatogramme der erhaltenen Polymere unter Verwendung der verschiedenen Azid/Propargyl-Verhältnisse sind in Abbildung 7.4 dargestellt.

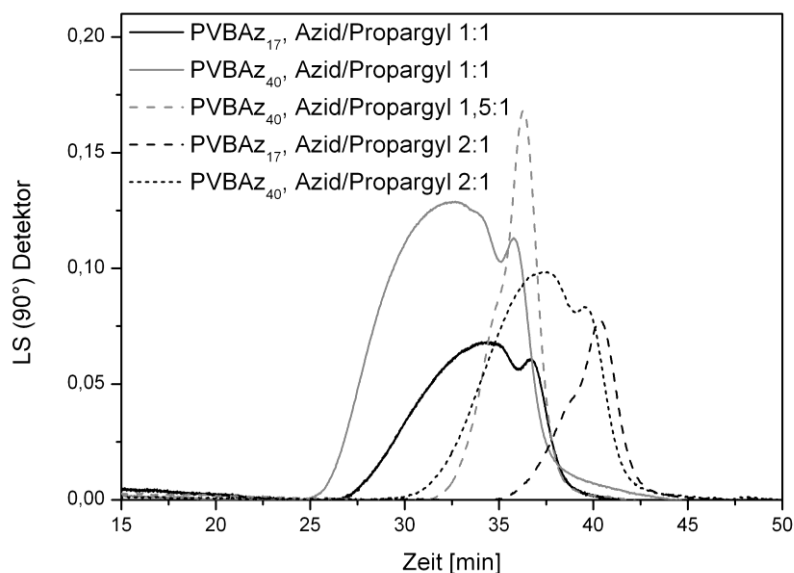


Abbildung 7.4: GPC-Chromatogramme der PBLG-Bürsten bei verschiedenen Verhältnissen von Azid/Propargyl.

Die GPC-Kurven zeigen jeweils eine Schulter im hochmolekularen Bereich, die je nach eingestelltem Azid/Propargyl-Verhältnis unterschiedlich groß ist. Wenn das molare Verhältnis von Azid/Propargyl auf 1:1 (PVBAz-g-PBLG-1, PVBAz-g-PBLG-2) eingestellt wird, ist die Schulter im Chromatogramm besonders groß. Wird hingegen ein leichter Überschuss an Azid verwendet, wie z.B. bei PVBAz-g-PBLG-5 mit 1,5:1 (Azid/Propargyl) unter Verwendung des Rückgrats PVBAz mit  $P_n = 40$  zeigt das Chromatogramm des resultierenden Polymers nur eine kleine Schulter. Vermutlich wird durch die Erzeugung einer hohen lokalen Dichte von PBLG-Ketten, auch die Neigung zur Assoziation erhöht. Es ist bekannt, dass PBLG in verschiedenen Lösungsmitteln assoziiert.<sup>[13, 15]</sup> Die Assoziation wird durch die Bildung von nicht-kovalenten und reversiblen Wechselwirkungen (z.B. elektrostatisch, Van-der-Waals-Kräfte, Wasserstoffbrückenbindungen) hervorgerufen. In Lösung orientieren sich benachbarte PBLG  $\alpha$ -Helices antiparallel. Bei einer geschlossenen Assoziation mit einer *head-to-tail* Anordnung erfolgt die Assoziation über die Bildung intermolekularer Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den Polymerendgruppen.<sup>[13]</sup> Eine molekulare Assoziation wird dann in den Lösungsmitteln hervorgerufen, welche nur ein geringes oder kein Potenzial zur Bildung von Wasserstoffbrückenbindungen zeigen. Bei 25 °C liegt PBLG bei Verwendung von DMF als Lösungsmittel ebenfalls assoziiert vor.

Jedoch wird bei erhöhten Temperaturen von 60 bis 70 °C die Assoziation in DMF verhindert.<sup>[15, 234, 235]</sup> Um zu untersuchen, ob die Assoziation der PBLG-Ketten wieder aufgelöst werden kann, wurden die Polymere in DMF bei 60 °C für eine längere Zeit gerührt. Exemplarisch sind die GPC-Kurven der beiden Polymere aus PVBAz-g-PBLG-3 und PVBAz-g-PBLG-5 gezeigt (Abbildung 7.5).

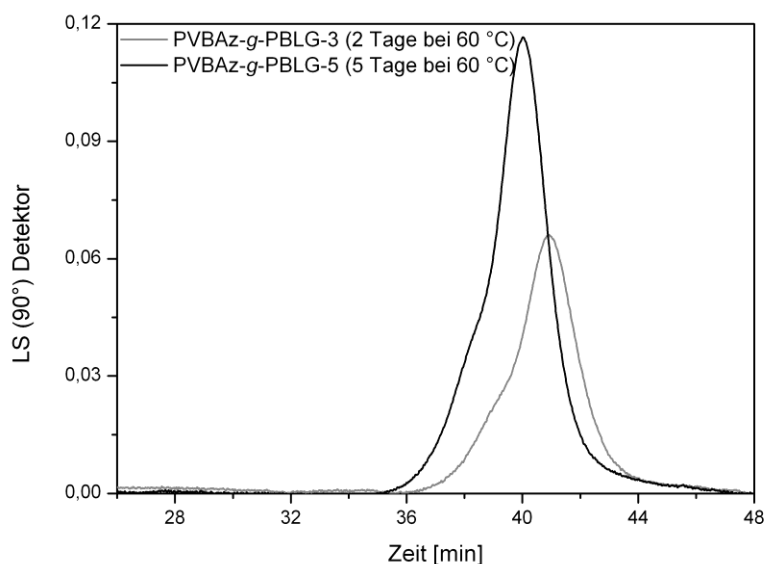


Abbildung 7.5: GPC-Kurven der Polymere PVBAz-g-PBLG-3 (Lösungsdauer von 2 Tagen bei 60 °C in DMF) und PVBAz-g-PBLG-5 (Lösungsdauer von 5 Tagen bei 60 °C in DMF).

Beide Chromatogramme sind nahezu monomodal und zeigen im hochmolekularen Bereich nur noch einen geringen Anteil einer kleinen Schulter. Wie erwartet lösen sich die assoziierten PBLG-Ketten mit der Zeit langsam auf. Für die Polymere PVBAz-g-PBLG-3 und PVBAz-g-PBLG-5 wurde im Anschluss an den Lösungsprozess (2-5 Tage bei 60 °C in DMF) im Vergleich von zuvor mittels GPC-MALLS ein kleineres Molekulargewicht von 57000 g/mol bzw. 116000 g/mol bestimmt. Für das Polymer PVBAz-g-PBLG-3 wurde ein Azid/Propargyl-Verhältnis von 2:1 eingestellt. Bei einer vollständigen Umsetzung der PBLG-Seitenketten sollte eine Pfropfdichte von etwa 50 % erhalten werden. Die berechnete Pfropfdichte für PVBAz-g-PBLG-3 beträgt etwa 74 % und liegt damit deutlich über dem Erwartungswert. Die GPC-Ergebnisse zeigen, dass Aggregate noch vorliegen und nach einer Lösungsdauer von 2 Tagen nur teilweise gelöst werden. Für eine weitere Untersuchung sollte das Polymer für die Probenvorbereitung der GPC eine noch längere Zeit in DMF bei 60 °C gerührt werden, um die Aggregation vollständig aufzulösen. Im Fall des Polymers PVBAz-g-PBLG-5 beträgt die berechnete Pfropfdichte etwa 66 %. Theoretisch ist bei einem

Azid/Propargyl-Verhältnis von 1,5:1 eine maximale Pfropfdichte von 67 % zu erwarten. Die Kupplungsreaktion führte in diesem Fall zu einer vollständigen Umsetzung der PBLG-Seitenketten. Das Vorliegen von Aggregaten kann jedoch nicht ausgeschlossen werden, da das GPC-Chromatogramm noch eine kleine Schulter zeigt. Wird für die Darstellung von Pfropfcopolymeren ein Azid/Propargyl-Verhältnis von 1:1 eingestellt, dann ist allerdings die Aggregation so groß, dass die Polymere auch nach einer längeren Rührzeit von beispielsweise 5 Tagen noch einen erheblichen Anteil an aggregierten Teilchen aufweisen, die makroskopisch sichtbar sind. DMF als Lösungsmittel scheint für die Auflösung von großen Aggregaten nicht geeignet zu sein. Für die Bestimmung der Molekulargewichte mittels GPC ist es aber entscheidend, die Polymere vollständig in DMF lösen zu können, da dieses Lösungsmittel für die GPC-Analytik eingesetzt wird.

Aus den Voruntersuchungen lässt sich feststellen, dass die molekulare Assoziation von PBLG nach einer bestimmten Zeit teilweise aufgelöst werden kann. Um die Assoziation für die folgenden Kupplungsreaktionen möglichst gering zu halten, wird bei Verwendung des kleinen Rückgrats PVBAz ( $P_n = 17$ ) mit einem Verhältnis von Azid/Propargyl von 2:1 gearbeitet. Für die Kupplungsreaktionen mit dem großen Rückgrat PVBAz ( $P_n = 40$ ) ergibt sich aus den Voruntersuchungen ein Verhältnis von Azid/Propargyl von 1,5:1. Es ist davon auszugehen, dass die Kupplungsreaktion zwischen PBLG-Seitenkette und Rückgrat zu keiner vollständigen Umsetzung führen kann und somit die Pfropfdichte maximal 50 % bzw. 67 % erreichen kann.

### 7.1.3 kovalente Anbindung der PBLG-Seitenketten an PVBAz

Für die Synthese von PBLG-haltigen Pfropfcopolymeren werden PBLG-Makromonomere (MM) mit verschiedenen Molekulargewichten als Seitenketten kovalent an das PVBAz als Rückgrat mit einem Polymerisationsgrad von 17 bzw. 40 über die „Click“-Reaktion angebunden. In Tabelle 7.3 sind die Ergebnisse der ermittelten Molekulargewichte und Polydispersitäten sowie die daraus berechneten Pfropfdichten  $Y$  zusammengefasst.

Tabelle 7.3: GPC Ergebnisse der Synthese von PBLG-haltigen Pfropfcopolymeren mittels CuAAC.

<i>Polymer</i>	<i>PBLG</i>	<i>PVBaz</i> $P_n$	<i>PVBaz-g-PBLG</i>		$Y_{\text{Pfropfdichte}}$ [%]	<i>Lösungs- zeit*</i>
	$M_n / P_n$ [g/mol]		$M_{n(\text{GPC})}$ [g/mol]	PD		
PVBaz <sub>17-g</sub> -PBLG <sub>16</sub>	3400 / 16	17	45000	1,20	74	sofort
PVBaz <sub>40-g</sub> -PBLG <sub>16</sub>	3400 / 16	40	92000	1,12	64	sofort
PVBaz <sub>17-g</sub> -PBLG <sub>20</sub>	4400 / 20	17	57000	1,07	74	sofort
PVBaz <sub>40-g</sub> -PBLG <sub>20</sub>	4400 / 20	40	121000	1,12	66	5 Tage bei 60 °C
PVBaz <sub>17-g</sub> -PBLG <sub>23</sub>	5000 / 23	17	59000	1,10	65	4 Tage bei 60 °C
PVBaz <sub>40-g</sub> -PBLG <sub>23</sub>	5000 / 23	40	124000	1,10	59	3 Tage bei 60 °C
PVBaz <sub>17-g</sub> -PBLG <sub>28</sub>	6100 / 28	17	71000	1,06	67	sofort
PVBaz <sub>40-g</sub> -PBLG <sub>28</sub>	6100 / 28	40	125000	1,12	50	24 h bei 60 °C
PVBaz <sub>17-g</sub> -PBLG <sub>33</sub>	7300 / 33	17	92000	1,05	71	sofort
PVBaz <sub>17-g</sub> -PBLG <sub>49</sub>	10700 / 49	17	117000	1,07	63	4 Tage bei 60 °C
PVBaz <sub>40-g</sub> -PBLG <sub>49</sub>	10700 / 49	40	190000	1,05	43	4 Tage bei 60 °C

\* Für die Auflösung der makroskopisch sichtbaren Aggregate wird die Lösungszeit in DMF variiert.

Unter Verwendung des PVBaz mit einem Polymerisationsgrad ( $P_n$ ) von 17 als Rückgrat konnten Pfropfdichten zwischen 63 und 74 % erzielt werden, die noch alle über dem Erwartungswert von 50 % liegen. Wird ein PVBaz mit einem  $P_n$  von 40 eingesetzt, werden insgesamt Pfropfdichten im Bereich zwischen 43 und 66 % erhalten. Diese Werte liegen alle unter der theoretisch erwarteten Pfropfdichte von 67 %. Die aggregierten Polymere konnten im Lösungsmittel DMF bei 60 °C teilweise aufgelöst werden. Offensichtlich konnte aber die Aggregation bei den verwendeten Azid/Propargyl-Verhältnissen nicht vollständig unterdrückt werden. Die Polydispersitäten liegen alle unter 1,21. Die mittels GPC-MALLS bestimmten Molekulargewichte und Polydispersitäten beziehen sich dabei auf die vollständig gelösten Polymere. Die Aggregationsbildung der PBLG-Bürsten beruht auf einem sterischen Effekt. PBLG-Bürsten, die mit dem längeren Rückgrat PVBaz mit einem  $P_n = 40$  hergestellt wurden, neigen eher zur Aggregationsbildung, da die Konzentration an PBLG-Ketten viel höher ist. Die GPC-Chromatogramme der PBLG-Bürsten sind eng und monomodal. Exemplarisch sind die Chromatogramme der resultierenden Polymere aus PVBaz<sub>17-g</sub>-PBLG<sub>49</sub> und PVBaz<sub>40-g</sub>-PBLG<sub>49</sub> mit RI-Detektion im Vergleich zum ursprünglichen PBLG-Makromonomer ( $M_n = 10700$  g/mol) gezeigt (Abbildung 7.6). Beide Chromatogramme der PBLG-Bürsten sind erwartungsgemäß zu niedrigeren Elutionszeiten verschoben, was auf eine Zunahme des Molekulargewichtes hindeutet. Ebenfalls sind beide PBLG-Bürsten durch Homopolymer verunreinigt. Der prozentuale Massenanteil an Homopolymer ist mit 31 % im

Polymer PVBAz<sub>40</sub>-g-PBLG<sub>49</sub> im Vergleich zum Polymer PVBAz<sub>17</sub>-g-PBLG<sub>49</sub> mit 0,9 % deutlich größer. Aus dem experimentell bestimmten Molekulargewicht mittels GPC-MALLS wurde die Pfropfdichte berechnet. Mit dem kürzeren Rückgrat konnten vermutlich mehr PBLG-Seitenketten kovalent angebunden werden, wobei die berechnete Pfropfdichte von 63 % deutlich über dem Erwartungswert von 50 % liegt. Die Kupplungsreaktion mit dem längeren Rückgrat resultierte in einer geringeren Pfropfdichte von nur 43 %. Da auch hier eine Aggregation nicht vollkommen ausgeschlossen werden kann, könnte es sein, dass die tatsächliche Pfropfdichte sogar noch geringer ist.

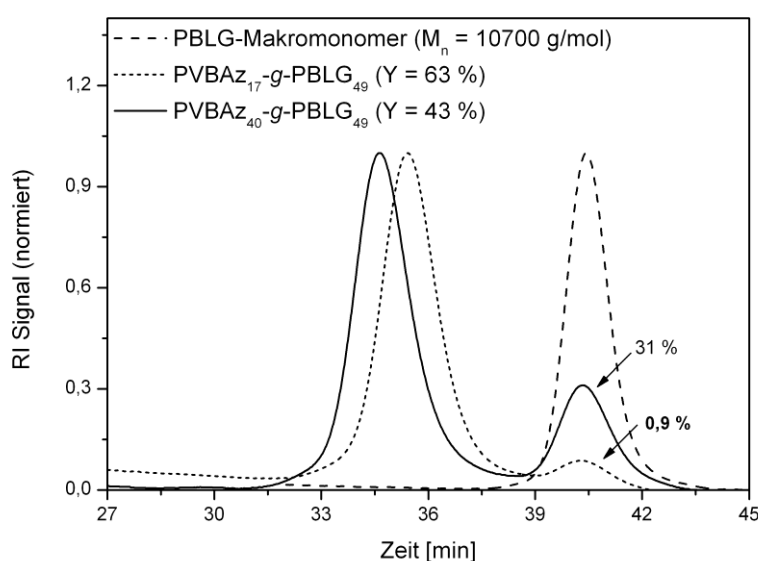


Abbildung 7.6: GPC-Chromatogramme der PBLG-Bürsten PVBAz<sub>17</sub>-g-PBLG<sub>49</sub> und PVBAz<sub>40</sub>-g-PBLG<sub>49</sub> zum entsprechenden PBLG-MM mit  $M_n = 10700$  g/mol.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse, dass die Länge des Rückgrats einen Einfluss auf die Pfropfdichte hat. Kupplungsreaktionen mit dem kürzeren PVBAz ( $P_n = 17$ ) führen im Vergleich zum längeren Rückgrat (PVBAz,  $P_n = 40$ ) zu höheren Pfropfdichten. Mit zunehmendem Molekulargewicht des Rückgrats steigt durch die entropischen Effekte das hydrodynamische Volumen des Knäuel-Polymers. PBLG-Seitenketten werden vorzugsweise an die funktionellen Gruppen angebunden, die sich an der Oberfläche des flexiblen Polymers befinden. Der Diffusionsweg zum Inneren des Knäuels wird mit steigendem Molekulargewicht länger und die Seitenketten erreichen dort nur schwer die funktionellen Gruppen. Außerdem wird es mit zunehmendem Molekulargewicht des flexiblen Rückgrats schwieriger, das Knäuel-Polymer in eine gestreckte Struktur für die Herstellung von zylindrischen Polymerbürsten zu zwingen.

Da die Kupplungsreaktionen zu keiner vollständigen Umsetzung der Azidgruppen am Rückgrat geführt haben, sollte mittels FT-IR die charakteristische Azid-Bande bei ca.  $2100\text{ cm}^{-1}$  nachzuweisen sein. Exemplarisch ist das FT-IR-Spektrum der  $\text{PVBAz}_{17}\text{-g-PBLG}_{19}$  in Abbildung 7.7 gezeigt. Neben der charakteristischen Azid-Bande bei  $2097\text{ cm}^{-1}$  des Rückgrats sind die Banden Amid-I und Amid-II bei  $1650$  und  $1547\text{ cm}^{-1}$  sowie die Ester-Bande bei  $1739\text{ cm}^{-1}$  der  $\alpha$ -helicalen Struktur der PBLG-Seitenketten zu sehen.

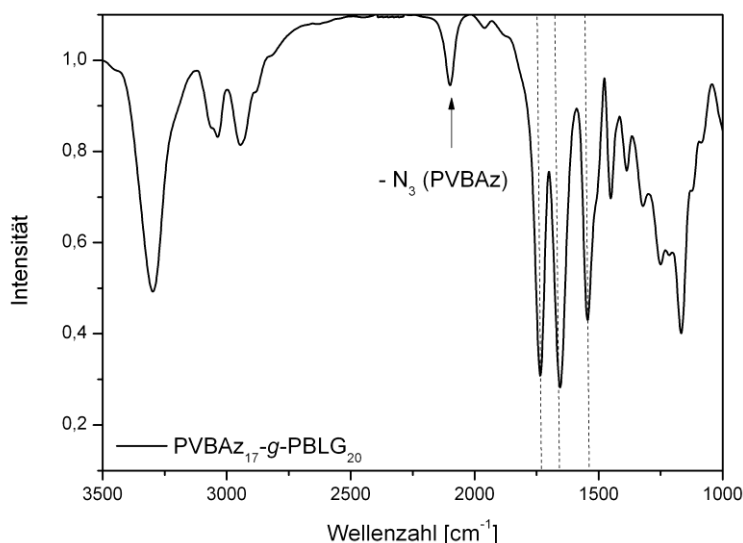


Abbildung 7.7: FT-IR-Spektrum von  $\text{PVBAz}_{17}\text{-g-PBLG}_{19}$ .

Aus den GPC-Ergebnissen kann bei Verwendung des PVBAz mit  $P_n = 40$  ein sterischer Einfluss, resultierend aus der Länge der PBLG-Seitenkette, auf die Pfropfdichte beobachtet werden. Mit zunehmender Länge der Seitenkette nimmt die Pfropfdichte von 64 auf 43 % ab. Der Zusammenhang zwischen Molekulargewicht des Pfropfcopolymers zum Molekulargewicht des eingesetzten PBLG-Arms ist in Abbildung 7.8 dargestellt. Es kann ein linearer Trend beobachtet werden. Bei einer maximal möglichen Pfropfdichte von 67 % wäre allerdings ein steilerer Verlauf des Graphen zu erwarten. Die Auftragung des Molekulargewichts der PBLG-Seitenkette gegen das Molekulargewicht der resultierenden PBLG-Bürsten für das System mit PVBAz mit  $P_n = 17$  zeigt ebenfalls einen linearen Zusammenhang, aber mit einer erwartungsgemäßen Steigung des Graphens. Die experimentell bestimmten Molekulargewichte sind aufgrund der Aggregation überbestimmt und liegen daher alle über den theoretisch erwarteten Molekulargewichten bei einer Pfropfdichte von 50 %. Der Zusammenhang zeigt deutlich, dass die Pfropfdichten der PBLG-



Bürsten, die im Bereich zwischen 64 und 74 % liegen, alle um einen Mittelwert streuen. Es kann festgestellt werden, dass mit dem kürzeren PVBAz kein sterischer Effekt der Länge der PBLG-Seitenkette auf die Pfropfdichte zu beobachten ist.

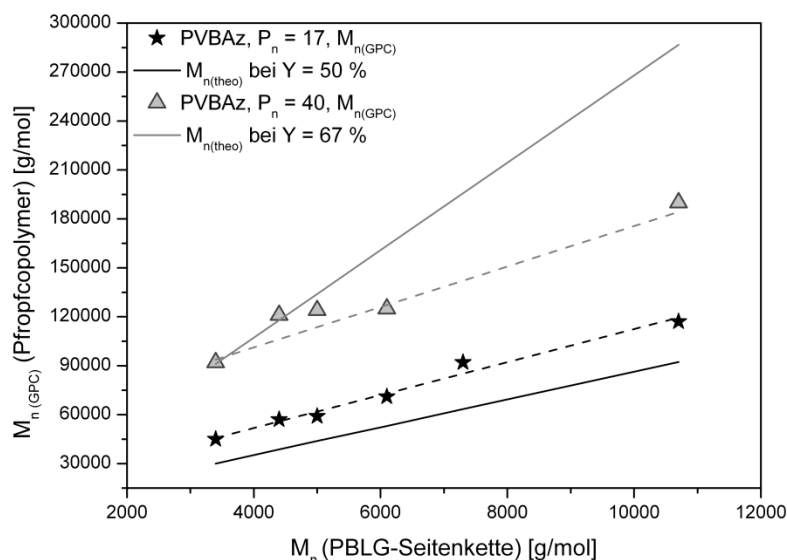


Abbildung 7.8: Auftragung des mittels GPC-MALLS bestimmten Molekulargewichtes und des theoretischen Molekulargewichtes der PVBAz-g-PBLG Pfropfcopolymere unter Verwendung des PVBAz mit  $P_n = 17$  und 40 als Rückgrat gegen das Molekulargewicht der PBLG-Seitenketten.

Die erhaltenen Pfropfdichten können mit den Ergebnissen aus der Literatur kaum verglichen werden, da in den meisten Arbeiten mit einem stöchiometrischen Verhältnis von Azid/Propargyl mit 1:1 oder sogar einem Überschuss an Seitenkette gearbeitet wurde.<sup>[75, 76, 233, 236-238]</sup> GAO und MATYJASZEWSKI synthetisierten Pfropfcopolymere mit einer Pfropfdichte von maximal 88,4 %, wobei ein sehr hoher Überschuss an azid-terminierten PEG-Seitenketten ( $M_w = 775$  g/mol) mit 1:8,5 für Propargyl/Azid benötigt wurde.<sup>[233]</sup> Bei einem kleineren Verhältnis für Propargyl/Azid, wie z.B. 1:1,8 konnte die Arbeitsgruppe nur eine Pfropfdichte von 62,5 % erreichen. Außerdem konnte festgestellt werden, dass mit zunehmender Länge der Seitenkette die Pfropfdichte beeinflusst wird. Die Pfropfdichte reduzierte sich von 88,4 % auf 47,7 % wenn PEG als Seitenkette mit einem höheren Molekulargewicht von 2025 g/mol anstatt 775 g/mol eingesetzt wurde. Weitaus geringere Pfropfdichten wurden mit sterisch noch anspruchsvolleren Gruppen erhalten. In der vorliegenden Arbeit konnte hingegen kein Überschuss an Seitenketten eingesetzt werden. Dennoch konnten im Vergleich zu den Ergebnissen von GAO et al.<sup>[233]</sup> unter Verwendung des PVBAz als Rückgrat mit einem  $P_n$  von 40 höhere Pfropfdichten bis zu 66 % mit längeren Seitenketten erreicht werden.

Möglicherweise kann die Pfropfdichte durch Verwendung eines starren Polymers als Rückgrat anstatt eines flexiblen Polymers noch weiter gesteigert werden.<sup>[75]</sup> Ein Rückgrat mit einer starren Struktur, wie die  $\alpha$ -Helix verringert die sterische Abstoßung zwischen den Seitenketten und ermöglicht eine bessere Erreichbarkeit der funktionellen Gruppen für eine Kupplung.

#### 7.1.4 Charakterisierung der PBLG-Bürsten

##### Thermische Analyse (DSC)

Durch DSC-Messungen können Aussagen über die thermischen Eigenschaften von PBLG-haltigen Pfropfcopolymeren im Vergleich zum PBLG-Homopolymer gemacht werden. Abbildung 7.9 zeigt DSC-Kurven für PBLG-haltige Pfropfcopolymere mit unterschiedlicher Länge der PBLG-Seitenkette ( $P_n = 16, 23, 33, 49$ ), hergestellt mit PVBAz mit einem  $P_n$  von 17 als Rückgrat. Zum Vergleich sind ebenfalls die DSC-Kurven von zwei PBLG-Homopolymeren mit unterschiedlichem Molekulargewicht von 3400 g/mol bzw. 10700 g/mol dargestellt. Für die Auswertung wird die Peak-Temperatur des Schmelzbereiches aus den DSC-Kurven betrachtet. Der Schmelzpunkt wird von zwei Effekten beeinflusst: dem Molekulargewicht und der Struktur.<sup>[154, 239]</sup> Der Schmelzpunkt ( $T_m$ ) des PBLG-Homopolymers mit einem Molekulargewicht von 3400 g/mol ( $P_n = 16$ ) liegt bei 279 °C. Das PBLG-Homopolymer mit einem größeren Molekulargewicht von 10700 g/mol ( $P_n = 49$ ) hat ein  $T_m$  von 293 °C. Ein entsprechender Temperaturunterschied von etwa 14 °C wird ebenfalls für die Pfropfcopolymere gefunden. Pfropfcopolymere mit kurzen PBLG-Seitenketten ( $P_n = 16$  und 23) erreichen einen früheren Schmelzbereich, der bei etwa 235 °C liegt. Längere Seitenketten mit einem  $P_n$  von 33 bzw. 49 zeigen eine Schmelztemperatur bei 249 °C. Auch ist ein Einfluss der Struktur auf die Schmelztemperatur zu beobachten. Lineares PBLG besitzt einen höheren Schmelzpunkt im Vergleich zum Pfropfcopolymer. In den Pfropfcopolymeren ist die Beweglichkeit der Polymerketten eingeschränkt, wodurch kleinere Kristalle gebildet werden und sich der Schmelzpunkt erniedrigt. Eine höhere Beweglichkeit der Polymerketten führt zur Bildung von größeren Kristallen, die erst bei höheren Temperaturen schmelzen. Die Schmelzkurven der Pfropfcopolymere mit längeren Seitenketten zeigen außerdem einen bimodalen Schmelzbereich, was durch die Verunreinigung mit PBLG-Homopolymer im Pfropfcopolymer verursacht sein könnte.

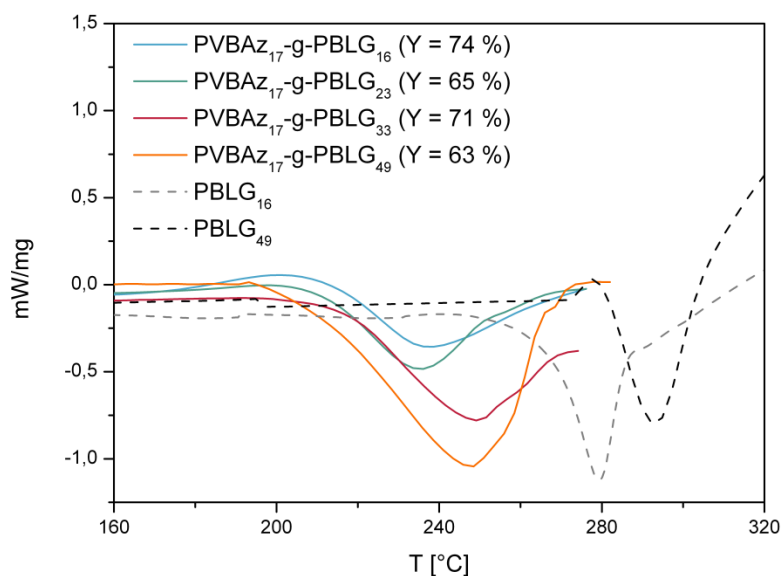


Abbildung 7.9: DSC-Kurven der PVBAz-g-PBLG Pfropfcopolymere im Vergleich zum PBLG-Homopolymer mit  $P_n = 16$  ( $M_n = 3400$  g/mol) und  $49$  ( $M_n = 10700$  g/mol).

### Circulardichroismus (CD)

Aus Messungen des Circulardichroismus (CD) können direkt Informationen über die Sekundärstruktur der Polypeptide in Lösung erhalten werden, da sich für die jeweiligen Konformationen ( $\alpha$ -Helix,  $\beta$ -Faltblatt und Zufallsknäuel) charakteristische Banden ergeben.<sup>[185]</sup> Als Lösungsmittel kann DMF für den Absorptionsbereich von Polypeptiden in der CD-Spektroskopie nicht verwendet werden.<sup>[75]</sup> Als bekanntes Lösungsmittel für geschützte Peptidstrukturen wurde 1,1,1,3,3,3-Hexafluoroisopropanol (HFIP) eingesetzt, da es ebenfalls in der Lage ist PBLG-Bürsten in Lösung zu bringen. Zudem ist HFIP im Absorptionsbereich von 190 - 250 nm optisch transparent.<sup>[240, 241]</sup> Die CD-Spektren sind als mittlere molare Elliptizitäten (bezogen auf die Monomereinheit) von PBLG-haltigen Pfropfcopolymeren mit unterschiedlichen PBLG-Seitenkettenlängen ( $P_n = 20, 23, 33, 49$ ) in Abbildung 7.10 dargestellt. Zusätzlich sind als Vergleich die CD-Spektren von zwei PBLG-Homopolymeren mit unterschiedlichem Polymerisationsgrad ( $P_n = 20, 49$ ) gezeigt. Alle Polymerproben zeigen einen typischen Verlauf der  $\alpha$ -helicalen Sekundärstruktur des Polypeptides. Die charakteristischen Banden der  $\alpha$ -Helix zeigen bei 190 nm ein intensives positives Maximum und ein negatives Minimum bei 208 nm sowie 222 nm.<sup>[186, 242]</sup>

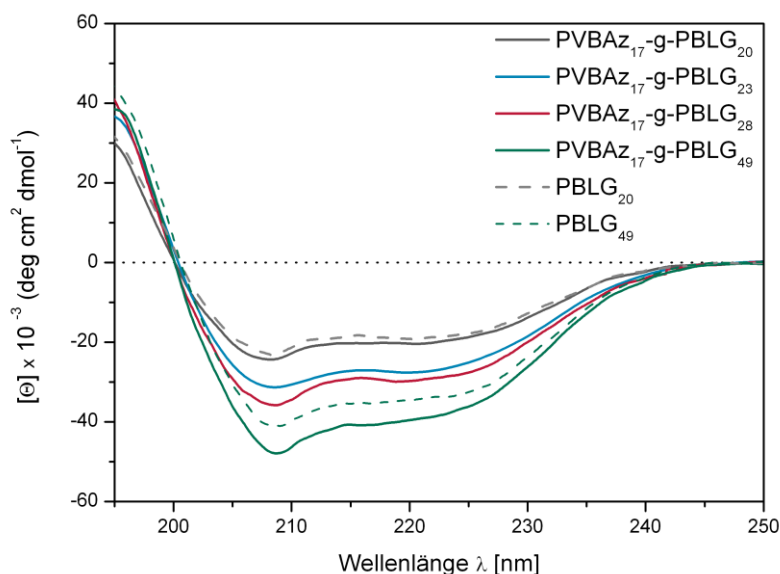


Abbildung 7.10: CD-Spektren der PVBAz-g-PBLG Polymerproben und PBLG-Homopolymer mit  $P_n = 20$  ( $M_n = 4400$  g/mol) und  $P_n = 49$  ( $M_n = 10700$  g/mol).

Der  $\alpha$ -helicale Anteil der PBLG-haltigen Pfropfcopolymere basierend auf dem Wert der molaren Elliptizität bei der charakteristischen Wellenlänge von 222 nm wurde nach MORROW et al. berechnet.<sup>[243]</sup> Erwartungsgemäß steigt der  $\alpha$ -helicale Anteil mit zunehmender Länge der PBLG-Seitenkette (Vgl. Tabelle 7.4). Zudem nimmt der Anteil der  $\alpha$ -Helicität im Pfropfcopolymer im Vergleich zum entsprechenden PBLG-Homopolymer mit gleichem Polymerisationsgrad sogar zu. Beispielsweise wurde für das PBLG-Homopolymer mit  $P_n = 40$  ein Helix-Anteil von 79 % und für das Pfropfcopolymer PVBAz<sub>17</sub>-g-PBLG<sub>49</sub> von 92 % bestimmt. Womöglich kann durch die geometrische Anordnung der PBLG-Ketten eine Stabilisierung der  $\alpha$ -helicalen Konformation erreicht werden. INOUE et al. stellten in ihren Arbeiten ebenfalls fest, dass die Anbindung von mehreren PBLG-Ketten zu einer Zunahme der  $\alpha$ -Helicität führt.<sup>[47]</sup>

Tabelle: 7.4: Ergebnisse des  $\alpha$ -helicalen Anteils im Pfropfcopolymer und PBLG-Homopolymer in HFIP bei  $\lambda = 222$  nm berechnet nach MORROW et al.<sup>[243]</sup>.

Polymer	$\alpha$ -Helicität [%] <sup>O</sup>
PVBaz <sub>17</sub> -g-PBLG <sub>20</sub>	44
PVBaz <sub>17</sub> -g-PBLG <sub>23</sub>	62
PVBaz <sub>17</sub> -g-PBLG <sub>28</sub>	67
PVBaz <sub>17</sub> -g-PBLG <sub>49</sub>	92
PBLG <sub>20</sub>	40
PBLG <sub>49</sub>	79

### Dynamische Lichtstreuung (DLS)

Für die Charakterisierung der Pfropfcopolymere in Lösung hinsichtlich ihrer hydrodynamischen Größe wurde dynamische Lichtstreuung (DLS) an den Polymerlösungen durchgeführt. Die Herstellung der zu vermessenden Proben erfolgte mit DMF als Lösungsmittel unter Zusatz von LiBr, um die Aggregation von PBLG zu unterdrücken. Die DLS-Messungen der Proben wurden bei 60 °C durchgeführt. In Tabelle 7.5 sind die mittels DLS bestimmten hydrodynamischen Radien  $R_H$  der Pfropfcopolymere zusammengefasst.

Tabelle 7.5: Ergebnisse der DLS-Messungen der PVBaz-g-PBLG Pfropfcopolymere gelöst in DMF (1 mg/mL) unter Zusatz von LiBr bei 60 °C.

Polymer	$M_n$ [g/mol]	Y [%]	PDI	$R_H$ [nm]
PVBaz <sub>17</sub> -g-PBLG <sub>16</sub>	45000	74	0,104	4,0
PVBaz <sub>17</sub> -g-PBLG <sub>20</sub>	57000	74	0,125	4,2
PVBaz <sub>17</sub> -g-PBLG <sub>23</sub>	59000	65	0,150	5,6
PVBaz <sub>17</sub> -g-PBLG <sub>28</sub>	71000	67	0,146	5,8
PVBaz <sub>17</sub> -g-PBLG <sub>33</sub>	92000	71	0,155	6,4
PVBaz <sub>17</sub> -g-PBLG <sub>49</sub>	117000	67	0,127	6,9
PVBaz <sub>40</sub> -g-PBLG <sub>16</sub>	92000	64	0,155	5,6
PVBaz <sub>40</sub> -g-PBLG <sub>20</sub>	121000	66	0,133	7,3
PVBaz <sub>40</sub> -g-PBLG <sub>23</sub>	124000	59	0,224	10,6
PVBaz <sub>40</sub> -g-PBLG <sub>28</sub>	125000	50	0,139	9,6
PVBaz <sub>40</sub> -g-PBLG <sub>49</sub>	190000	43	0,125	9,2

<sup>O</sup> Berechnung des  $\alpha$ -helicalen Anteils: %  $\alpha$ -Helix =  $(-[\theta_{222}] + 3000)/39000$

Der hydrodynamische Radius der Aggregate wächst mit zunehmendem Molekulargewicht der Pfropfcopolymere von 4,0 bis 10,6 nm. Das Polymer PVBAz<sub>40</sub>-g-PBLG<sub>49</sub> mit dem größten Molekulargewicht von 190000 g/mol zeigt hier die Ausnahme. Der Radius beträgt 9,2 nm und unterscheidet sich von den hydrodynamischen Radien mit 10,6 bzw. 9,6 nm für die beiden Polymere PVBAz<sub>40</sub>-g-PBLG<sub>23</sub> und PVBAz<sub>40</sub>-g-PBLG<sub>28</sub>, die ein kleineres Molekulargewicht besitzen. Es ist anzunehmen, dass in Abhängigkeit der Pfropfdichte sowie der Länge des Rückgrats verschiedene Strukturen in Lösung resultieren.<sup>[244]</sup> Das resultierende Polymer aus PVBAz<sub>40</sub>-g-PBLG<sub>49</sub> besitzt eine Pfropfdichte von 43 %. Die geringe Pfropfdichte führt dazu, dass die Struktur des Rückgrats flexibler wird und daher bevorzugt die Konformation eines Knäuels einnimmt. Aufgrund der geringen sterischen Wechselwirkungen zwischen den PBLG-Seitenketten nimmt der hydrodynamische Radius ab. Die höhere Pfropfdichte von 59 % bei PVBAz<sub>40</sub>-g-PBLG<sub>23</sub> sowie 50 % bei PVBAz<sub>40</sub>-g-PBLG<sub>28</sub> ändert vermutlich die Flexibilität des Rückgrats. Die Struktur des Rückgrats wird mit zunehmender Pfropfdichte starrer. Die sterischen Wechselwirkungen nehmen zu, wodurch das Pfropfcopolymer eine ausgebreitete Konformation einnehmen würde. Der Polydispersitätsindex (PDI), welcher ein Maß für die Partikelgrößenverteilung ist, liegt für die meisten Proben unter 0,155. Eine Ausnahme bildet die Probe PVBAz<sub>40</sub>-g-PBLG<sub>23</sub>, für die ein hoher PDI von 0,224 gefunden wurde. Ebenfalls wurden hier die größten Teilchen mit einem  $R_H$  von 10,6 nm bestimmt. In Abbildung 7.11 sind die Partikelgrößenverteilungen der Polymerproben mit dem kleinsten PDI (PVBAz<sub>17</sub>-g-PBLG<sub>16</sub>) und dem größten PDI (PVBAz<sub>40</sub>-g-PBLG<sub>23</sub>) dargestellt.

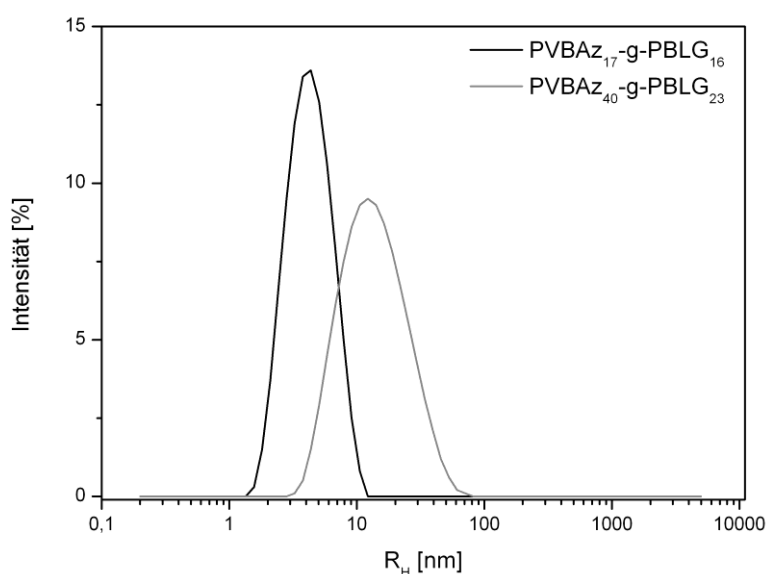


Abbildung 7.11: Partikelgrößenverteilung der hydrodynamischen Radien ( $R_H$ ) für die beiden Polymere PVBAz<sub>17</sub>-g-PBLG<sub>16</sub> und PVBAz<sub>40</sub>-g-PBLG<sub>23</sub>.

Die Partikelgrößenverteilungen sind monomodal und symmetrisch. Zusätzliche größere aggregierte Teilchen mit einem langsameren Diffusionsprozess, wurden in keiner der zu vermessenden Polymerlösungen gefunden. Eine breitere Partikelgrößenverteilung mit einem PDI von 0,224 weist die DLS-Messung der Polymerlösung aus PVBAz<sub>40</sub>-g-PBLG<sub>23</sub> auf. Möglicherweise sind die Teilchen in der Polymerlösung teilweise assoziiert, was in einen höheren PDI resultiert. Der entsprechende  $R_H$  von 10,6 nm kann aufgrund der breiten Verteilung daher fehlerbehaftet sein. Um die vermutete Aggregation der Polymerketten aufzulösen, wurde die DLS-Messung nach einem längeren Stehen der Lösung von 4 h wiederholt. Es konnte kein Unterschied in der Partikelgrößenverteilung festgestellt werden. Wie bereits die Ergebnisse aus der GPC-Analytik gezeigt haben, kann die Aggregation unter den gewählten Bedingungen (DMF unter Zusatz von LiBr, bei 60 °C) nicht vollständig unterdrückt werden.

### Rasterkraftmikroskopie (AFM)

Die von PBLG-haltigen Pfropfcopolymeren gebildeten Strukturen in Lösung wurden auch mittels AFM im Tapping-Mode untersucht. Für die Visualisierung der Molekülgestalt der Polymere wurde mit einer gering konzentrierten Polymerlösung ( $0,001 \leq \text{wt \%} \leq 0,0025$ ) gearbeitet, um die Aggregation von PBLG zu minimieren. Erwartungsgemäß sollten die Polymere aufgrund des Verhältnisses zwischen Länge der Seitenkette ( $P_n = 16 - 49$ ) und Länge des Rückgrats ( $P_n = 17$  bzw. 40) eine sphärische Form einnehmen. Ein weiterer wichtiger Parameter für die sich ausbildende Konformation der Polymere in Lösung ist die Pfropfdichte.<sup>[68]</sup> In Abhängigkeit der Pfropfdichte ist die Struktur des Polymers entweder flexibel oder gestreckt. Abbildung 7.12 zeigt eine AFM-Aufnahme der in einer Lösung aus HFIP (0,001 wt%) gebildeten Aggregate aus PVBAz<sub>17</sub>-g-PBLG<sub>16</sub>. Die Lösung wurde durch *spin-coating* (2000 U/min) auf ein Mica-Plättchen aufgebracht und an Luft getrocknet. Das Höhenbild wie auch das Phasenbild zeigen sphärische Strukturen, die vereinzelt oder mehrfach zusammengelagert vorliegen. Die Strukturen besitzen einen Durchmesser von etwa 80 bis 122 nm und eine Höhe von 11 bis 22 nm. Ein Vergleich zu den ermittelten Größen der Teilchen in Lösung aus den DLS-Messungen ( $R_H = 4 - 10,6$  nm) zeigt, dass die Dimensionen der Strukturen hier weitaus größer sind. Anhand der Daten können daher einzeln vorliegende Makromoleküle ausgeschlossen werden. Die Polymerketten wechselwirken miteinander und bilden Aggregate in Form von Ellipsoiden. Allerdings ist auch die Größe der AFM-Spitze zu

berücksichtigen.<sup>[245]</sup> Durch die geometrischen Wechselwirkungen zwischen der Größe und Form der AFM-Spitze mit der Probenoberfläche von sphärischen Partikeln können die realen Ergebnisse der Partikelgröße etwas verzerrt werden. Bei AFM-Spitzen mit pyramidalen Form, die eine ähnliche Größe wie die sphärischen Partikel auf der Probenoberfläche haben, kann die AFM-Spitze dann nicht mehr den Boden der Probenoberfläche erreichen. Dadurch werden anscheinend größere Partikelgrößen abgebildet. Genaue Aussagen mittels AFM können daher nur über die Höhe getroffen werden, die Breite kann aufgrund der Größe der AFM-Spitze auch ein Messartefakt sein.

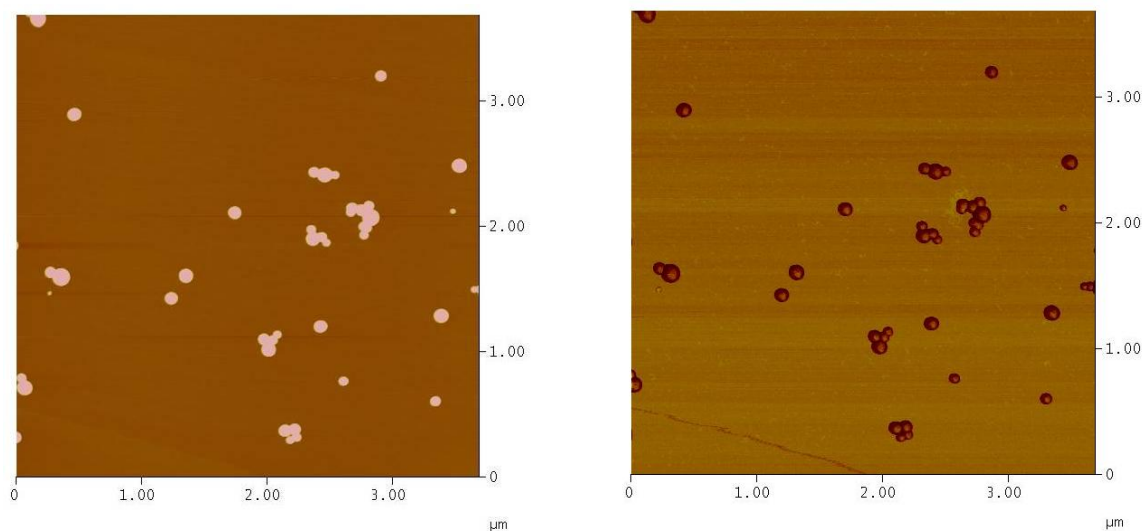


Abbildung 7.12: AFM-Aufnahme von PVBAz<sub>17</sub>-g-PBLG<sub>16</sub> (0,001 wt% in HFIP) auf Mica; Höhenbild (links) und Phasenbild (rechts).

Aus dem Höhen- und Phasenbild der AFM-Aufnahme der Probe PVBAz<sub>17</sub>-g-PBLG<sub>49</sub> (0,0025 wt% in HFIP) kann ebenfalls die Topographie von sphärischen Strukturen festgestellt werden (Abbildung 7.13). In diesem Fall lagern sich die Strukturen vermehrt zusammen. Die Durchmesser der Aggregate liegen zwischen 124 und 142 nm mit einer Höhe von 31 bis 42 nm. Im Vergleich zur vorherigen Probe (PVBAz<sub>17</sub>-g-PBLG<sub>16</sub>) sind die Aggregate noch etwas größer, was vermutlich mit der Länge der PBLG-Seitenkette zusammenhängt.



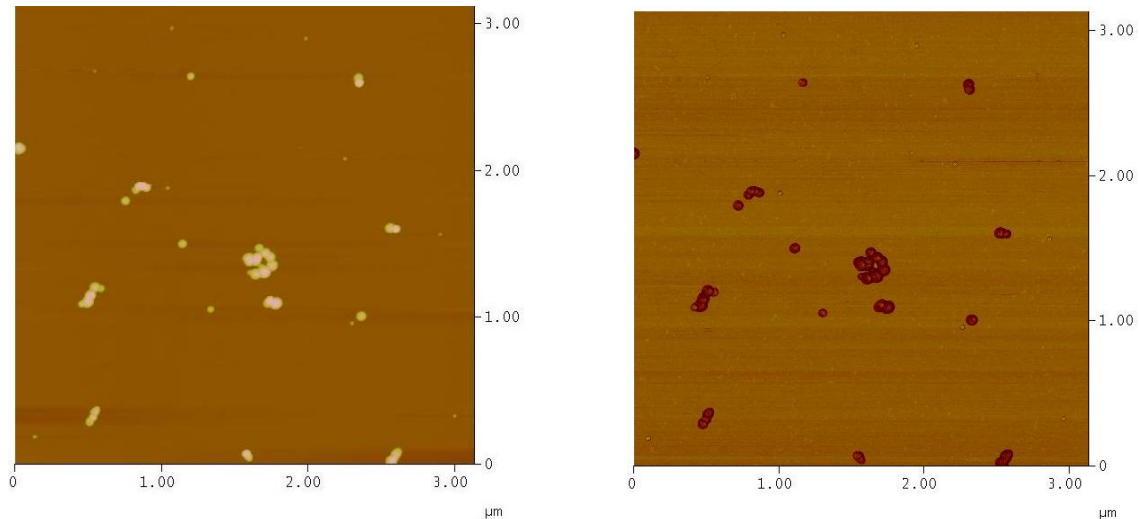


Abbildung 7.13: AFM-Aufnahme von PVBAz<sub>17</sub>-g-PBLG<sub>49</sub> (0,0025 wt% in HFIP) auf Mica; Höhenbild (links) und Phasenbild (rechts).

Etwa gleich große sphärische Strukturen zeigt die AFM-Aufnahme (Höhen- und Phasenbild) der Probe PVBAz<sub>40</sub>-g-PBLG<sub>20</sub> (Abbildung 7.14). Die Durchmesser der Strukturen liegen in einem Bereich von 92 bis 104 nm und die Höhen variieren von 16 bis 19 nm.

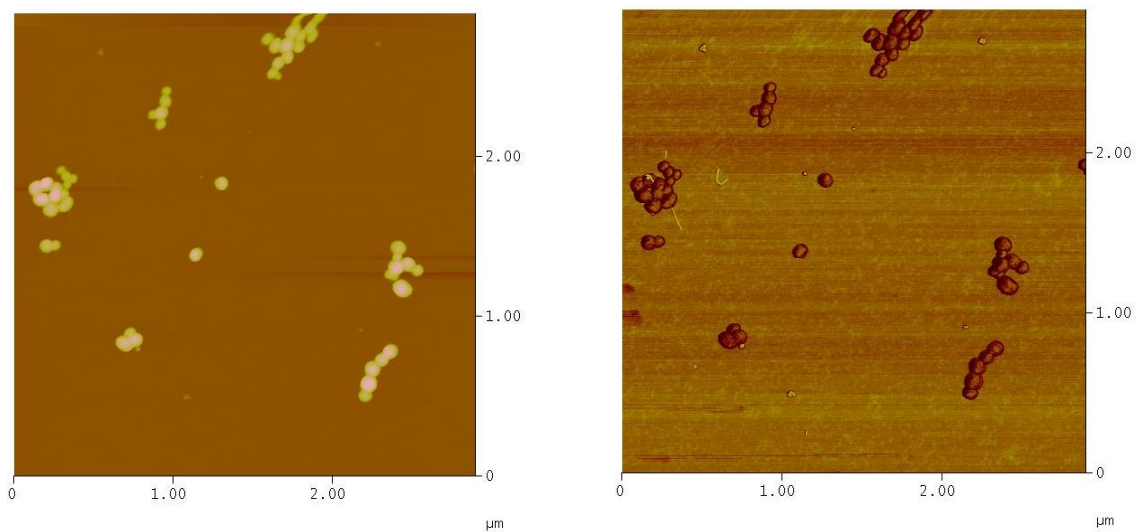


Abbildung 7.14: AFM-Aufnahme von PVBAz<sub>40</sub>-g-PBLG<sub>20</sub> (0,001 wt% in HFIP) auf Mica Höhenbild (links) und Phasenbild (rechts)

Insgesamt konnte mittels AFM gezeigt werden, dass PBLG-haltige Pfropfcopolymere Aggregate in Form von sphärischen Partikeln bilden. Dabei organisieren sich die PBLG-Ketten zu Aggregaten mit ähnlichen Dimensionen; sowohl die Durchmesser der Aggregate als auch die Höhe sind bei allen drei Proben vergleichbar. Ein Einfluss der Länge des Rückgrats sowie der Länge der PBLG-Seitenkette auf die Molekülgestalt konnte nicht untersucht werden. Die Aggregate sind deutlich größer als die Moleküldimensionen, daher

können anhand der AFM-Untersuchungen keine Aussagen über die Konformation der Moleküle gemacht werden. Auch kann ein Vergleich zu den Ergebnissen aus den DLS-Messungen nicht gezogen werden. Für weitere Untersuchungen der Konformation müssen daher die Bedingungen der Probenvorbereitung für die AFM-Messungen (Konzentration der Polymerlösung, Lösungsmittel, Temperatur) zunächst optimiert werden, um die Aggregation vollständig zu unterdrücken.

## 7.2 Hydrolyse der PBLG-Seitenketten

PBLG kann leicht unter hydrolytischen Bedingungen in die Poly(L-glutaminsäure) (PLGA) überführt werden. Im wässrigen Medium kann durch Änderung des pH-Wertes ein Knäuel-Helix Übergang induziert werden, d.h. die Sekundärstruktur von PLGA wird durch das umgebende Medium bestimmt. Das Aggregationsverhalten von polypeptidhaltigen Pfropfcopolymeren in Abhängigkeit des pH-Wertes wurde hier ebenfalls untersucht. Für die Untersuchungen im wässrigen Medium ist es erforderlich, die Benzyl-Schutzgruppe am PBLG zu entfernen. Die Entschützungsreaktion erfolgte unter sauren Reaktionsbedingungen. Um den Abbau der Polypeptidkette durch Hydrolyse der Amid-Bindungen zu verhindern, werden wasserfreie Säuren und möglichst kurze Reaktionszeiten verwendet.<sup>[246, 247]</sup> Die gezielte Hydrolyse von PBLG zu PLGA wurde nach BABIN et al. durchgeführt:<sup>[84]</sup> PBLG-haltige Pfropfcopolymere wurden in Trifluoressigsäure (TFA) gelöst und mit einer 33 %igen HBr-Lösung (33 % HBr in Essigsäure) umgesetzt (Abbildung 7.15). Bezüglich der Anzahl der PBLG-Monomereinheiten wurde HBr im 4-fachen Überschuss zugesetzt. Die Reaktion erfolgte bei Raumtemperatur und für eine Reaktionszeit von 1 h. Für die Überführung in ein wasserlösliches Polymer, wurde das entsprechende Natrium-glutamat Salz (Na-PLGA) isoliert. Dafür wurde das Polymer mit 0,1 M NaOH versetzt, dialysiert und anschließend aus Wasser gefriergetrocknet.

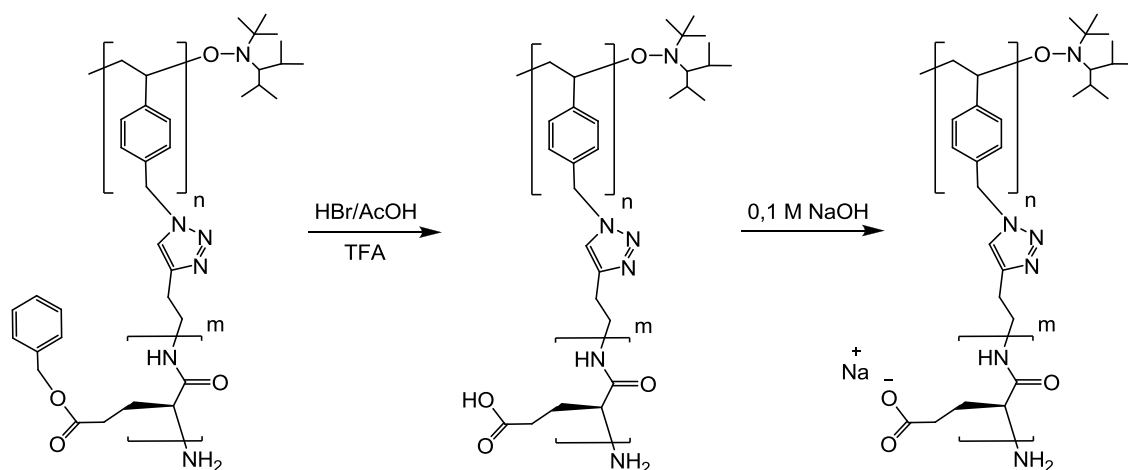


Abbildung 7.15: Hydrolyse von PBLG zu PLGA nach BABIN et al.<sup>[84]</sup>

Das  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum des erhaltenen Hydrolyseproduktes ist von einem vollständigen Fehlen der Banden für die Benzyl-Gruppe bei 7,0 ppm gekennzeichnet (Abbildung 7.16). Anhand der  $^1\text{H}$ -NMR-Analyse kann somit nachgewiesen werden, dass die beschriebene

Hydrolyse-Methode nach BABIN et al.<sup>[84]</sup> bei den verwendeten Reaktionsparametern zu einer vollständigen Hydrolyse von PBLG führt.

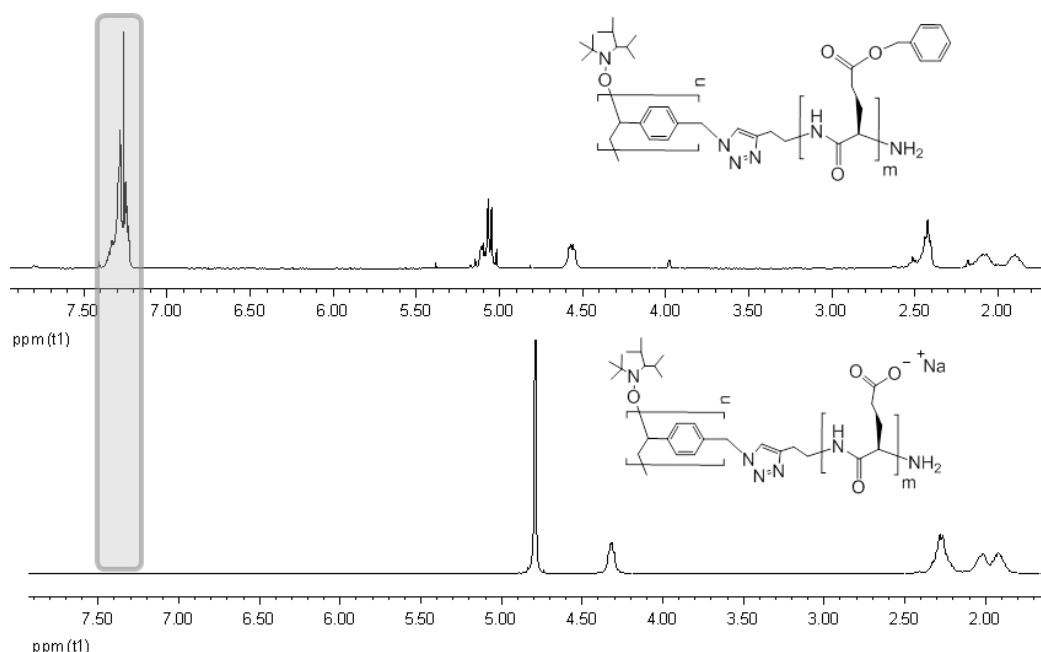


Abbildung 7.16:  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$  + 15 wt%  $\text{CF}_3\text{COOD}$ ) der PBLG-haltigen Pfropfcopolymere am Beispiel von  $\text{PVBAz}_{17}\text{-g-PBLG}_{49}$  vor (oben) und nach der Hydrolyse (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ , unten).

Für die Bestimmung der Molekulargewichte wurden die Polymere mithilfe der GPC-Analytik im Phosphatpuffer bei einem pH-Wert von 7,5 unter Zusatz von Salz ( $\text{NaN}_3$ ,  $\text{NaCl}$ ) vermessen. In Tabelle 7.6 sind die Ergebnisse aus der GPC-Analytik der entschützten Pfropfcopolymere mit Na-PLGA-Seitenketten zusammengefasst.

Tabelle 7.6: Ergebnisse der GPC-Analytik für die erhaltenen Pfropfcopolymere nach der Hydrolyse.

Polymer	<i>PVBAz-g-PBLG</i>			<i>PVBAz-g-Na-PLGA</i>		
	$P_n$ (PVBAz)	$P_n$ (PBLG)	$M_n$ [g/mol] / PD	$M_{n(\text{theo})}$	$M_{n(\text{exp.})}$	PD
$\text{PVBAz}_{17}\text{-g-Na-PLGA}_{20}$	17	20	57000 / 1,07	38000	55000	1,22
$\text{PVBAz}_{17}\text{-g-Na-PLGA}_{49}$	17	49	117000 / 1,07	82000	84000	1,51
$\text{PVBAz}_{40}\text{-g-Na-PLGA}_{16}$	40	16	92000 / 1,12	66000	69000	1,22
$\text{PVBAz}_{40}\text{-g-Na-PLGA}_{20}$	40	20	121000 / 1,12	86000	109000	1,17
$\text{PVBAz}_{40}\text{-g-Na-PLGA}_{49}$	40	49	190000 / 1,05	133000	158000	1,34

Das Molekulargewicht der Pfropfcopolymere nimmt nach Entfernung der Schutzgruppe wie erwartet ab. Die experimentell bestimmten Molekulargewichte sind allerdings höher als

erwartet. Zudem sind die Polydispersitäten im Vergleich zu den Benzyl-geschützten Pfropfcopolymeren gestiegen. Anhand der Ergebnisse ist davon auszugehen, dass eine Aggregation vorliegt.

Die Molekulargewichtsverteilung der Polymere kann einen weiteren Hinweis auf die Bildung von Aggregaten geben. In Abbildung 7.17 sind beispielhaft die GPC-Chromatogramme für die Polymere PVBAZ<sub>17</sub>-g-Na-PLGA<sub>20</sub>, PVBAZ<sub>40</sub>-g-Na-PLGA<sub>20</sub> und PVBAZ<sub>40</sub>-g-Na-PLGA<sub>49</sub> mit LS-Detektion und mit RI-Detektion dargestellt. Für alle drei Polymere wurde ein deutlich zu hohes Molekulargewicht bestimmt.

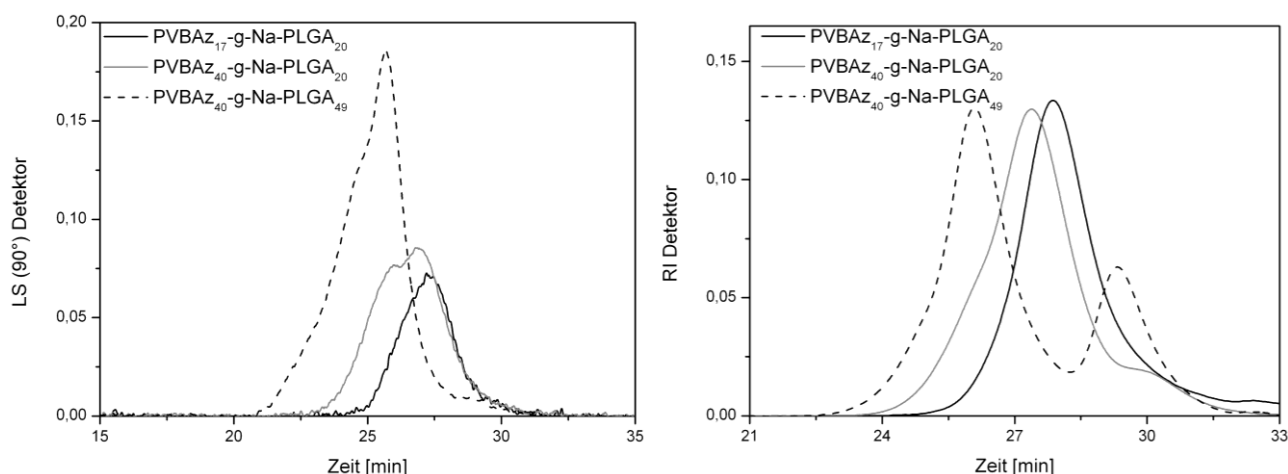


Abbildung 7.17: GPC-Chromatogramme der Pfropfcopolymere PVBAZ<sub>17</sub>-g-Na-PLGA<sub>20</sub> ( $M_n = 55000$  g/mol), PVBAZ<sub>40</sub>-g-Na-PLGA<sub>20</sub> ( $M_n = 109000$  g/mol) und PVBAZ<sub>40</sub>-g-Na-PLGA<sub>49</sub> ( $M_n = 158000$  g/mol) nach der Hydrolyse mit LS-Detektion (links) und RI-Detektion (rechts).

Die GPC-Kurven mit LS-Detektion zeigen im hochmolekularen Bereich für die beiden Polymere PVBAZ<sub>40</sub>-g-Na-PLGA<sub>20</sub> (grau) und PVBAZ<sub>40</sub>-g-Na-PLGA<sub>49</sub> (gestrichelt) eine Schulter. Die Zunahme des Molekulargewichtes wird durch Aggregation verursacht und kann durch den Salzzusatz in der hier verwendeten Konzentration nicht vollständig unterdrückt werden. Die Molekulargewichtsverteilung für das resultierende Polymer aus PVBAZ<sub>17</sub>-g-Na-PLGA<sub>20</sub> (schwarz) ist hingegen monomodal. In diesem Fall könnte die Bestimmung des zu hohen Molekulargewichtes von 55000 g/mol fehlerbehaftet sein, da das LS-Signal von einem starken Rauschen überlagert wird. Die GPC-Chromatogramme der Polymere mit RI-Detektion sind ebenfalls gezeigt (Abbildung 7.17, rechts). Wiederum kann für das resultierende Polymer aus PVBAZ<sub>17</sub>-g-Na-PLGA<sub>20</sub> eine enge und monomodale Verteilung beobachtet werden. Das GPC-Chromatogramm für das Polymer aus PVBAZ<sub>40</sub>-g-Na-PLGA<sub>49</sub> zeigt hingegen eine bimodale Verteilung und für PVBAZ<sub>40</sub>-g-Na-PLGA<sub>20</sub> den Ansatz einer

kleinen Schulter im niedermolekularem Bereich. Der zweite Peak bei höheren Elutionszeiten könnte eine Verunreinigung mit PLGA-Homopolymer sein. Polymere mit einem kleinen Molekulargewicht sind mittels LS-Detektion nicht detektierbar. Vor der Hydrolyse konnte bereits eine Verunreinigung von PBLG-Homopolymer im entsprechenden Pfropfcopolymer PVBAz<sub>40</sub>-g-PBLG<sub>49</sub> nachgewiesen werden (s. Kapitel 7.1.3, Abbildung 7.6, S. 139). Für die Dialyse der Polymere gegen Wasser wurden Membranschläuche mit einer Porengröße (MWCO = *Molecular Weight Cut Off*) von 12000 – 14000 Da eingesetzt. Es wurde erwartet, dass enthaltenes Na-PLGA-Homopolymer auch mit dem größten Molekulargewicht von 7400 g/mol ( $P_n = 49$ ) durch Dialyse entfernt werden kann. Eine mögliche Fragmentierung der Peptidbindungen durch die Bedingungen der sauren Hydrolyse kann ebenfalls nicht ausgeschlossen werden.<sup>[248]</sup> Bisher konnte nicht eindeutig geklärt werden, was die Ursache für das Auftreten von niedermolekularem Polymer ist.

### 7.2.1 Aggregationsverhalten in wässriger Lösung

Das Aggregationsverhalten von Pfropfcopolymeren mit einem Polypeptid als Rückgrat in selektiven Lösungsmitteln wurde bereits intensiv untersucht,<sup>[21, 69, 71, 72, 75, 150]</sup> aber nur wenige Arbeitsgruppen beschäftigen sich mit dem Selbstorganisationsverhalten von Pfropfcopolymeren mit Polypeptid-Seitenketten.<sup>[123, 249]</sup> Besonders interessant ist die Aggregation von hydrophilen Polypeptiden im wässrigen Medium, wobei durch Änderung des pH-Wertes leicht ein Helix-Knäuel Übergang induziert werden kann. Für die Untersuchung in Wasser stellt die Salzkonzentration eine zusätzliche Einflussgröße auf den Helix-Knäuel Übergang dar.<sup>[70]</sup>

Für die Untersuchung der Selbstorganisation im wässrigen Medium sollen die in dieser Arbeit hergestellten Pfropfcopolymere mit unterschiedlicher Länge der Seitenkette sowie Länge des Rückgrats eingesetzt werden. Es ist zu erwarten, dass beide Parameter einen Einfluss auf die Ausbildung der Sekundärstruktur zeigen. Mittels CD-Spektroskopie kann der pH-abhängige Helix-Knäuel Übergang für die Pfropfcopolymere mit Poly(L-glutaminsäure) (PLGA) als Seitenketten verfolgt werden, da jede Sekundärstruktur charakteristische Banden besitzt.<sup>[242, 250]</sup> Für eine bessere Vergleichbarkeit der CD-Messungen wurden die Polymere mit einer Konzentration von 0,2 mg/mL (w/v) in Wasser unter Zusatz von 0,01 M NaCl gelöst und in einem pH-Bereich von etwa 4 bis 7,5 vermessen. In Abbildung 7.18 sind die CD-Spektren als

mittlere molare Elliptizitäten (bezogen auf die Monomereinheit) für zwei der Pfropfcopolymere (PVBAz<sub>17</sub>-g-PLGA<sub>20</sub>, PVBAz<sub>17</sub>-g-PLGA<sub>49</sub>) gegenübergestellt.

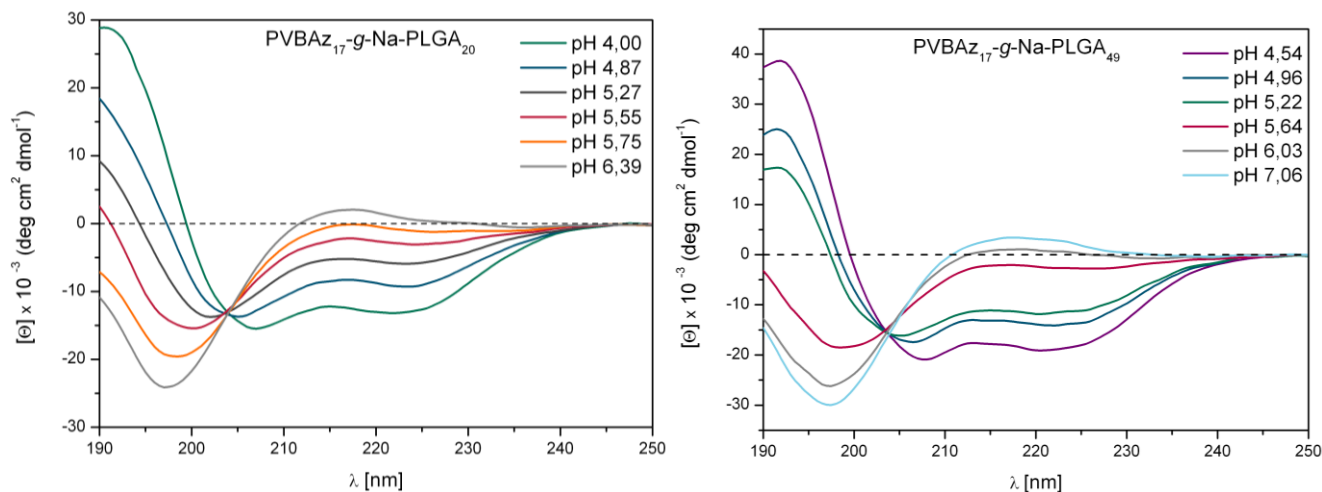


Abbildung 7.18: CD-Spektren in Abhängigkeit des pH-Wertes der Polymere PVBAz<sub>17</sub>-g-Na-PLGA<sub>20</sub> (links) und PVBAz<sub>17</sub>-g-Na-PLGA<sub>49</sub> (rechts).

In beiden Fällen erfolgt mit steigendem pH-Wert ein gradueller Übergang von einer Helix (pH = 4 bzw. 4,5) zur Knäuel-Konformation (pH > 6). Alle CD-Kurven zeigen einen einzigen isodichroistischen Punkt bei einer Wellenlänge von etwa 204 nm, was auf das Stattfinden eines Übergangs allein zwischen zwei Spezies hindeutet.<sup>[251]</sup> Ein qualitativer Vergleich der beiden Titrationskurven zeigt, dass die molaren Elliptizitäten im pH-Bereich von etwa 4 bis 5 für PVBAz<sub>17</sub>-g-PLGA<sub>49</sub> größer sind als für PVBAz<sub>17</sub>-g-PLGA<sub>20</sub>. Wie erwartet<sup>[186]</sup> steigt der Anteil der  $\alpha$ -helicalen Konformation mit zunehmendem Molekulargewicht der PLGA-Seitenkette. Für die Untersuchungen des Einflusses der Anzahl der kovalent gebundenen Seitenketten auf den pH-abhängigen Helix-Knäuel Übergang wurden Pfropfcopolymere mit gleicher Länge der PLGA-Seitenkette ( $P_n = 20, 49$ ), aber mit längerem Rückgrat (PVBAz,  $P_n = 40$ ) vermessen. Dabei konnte festgestellt werden, dass die charakteristischen CD-Banden für die  $\alpha$ -helicale Sekundärstruktur im Polymer noch stärker ausgeprägt sind (s. Anhang). Messungen bei einem pH-Wert unter 4,0 konnten nicht durchgeführt werden, da die Löslichkeit der Polymere in diesem Bereich nicht mehr ausreichend ist.

Durch Beobachtung der charakteristischen Wellenlänge bei 222 nm in Abhängigkeit des pH-Wertes kann der Helix-Knäuel Übergang genau verfolgt werden. In Abbildung 7.19 sind die molaren Elliptizitäten pro Aminosäure bei dieser Wellenlänge für die entsprechenden

Polymerproben gegen den pH-Wert aufgetragen. Bei niedrigeren pH-Werten ist PLGA protoniert und nimmt eine  $\alpha$ -helicale Konformation ein. Ab einem pH-Wert von etwa 6,5 sind die Carboxylgruppen von PLGA ionisiert und nehmen aufgrund der zunehmenden abstoßenden Wechselwirkungen eine ausgedehnte Knäuel-Konformation ein.<sup>[252]</sup>

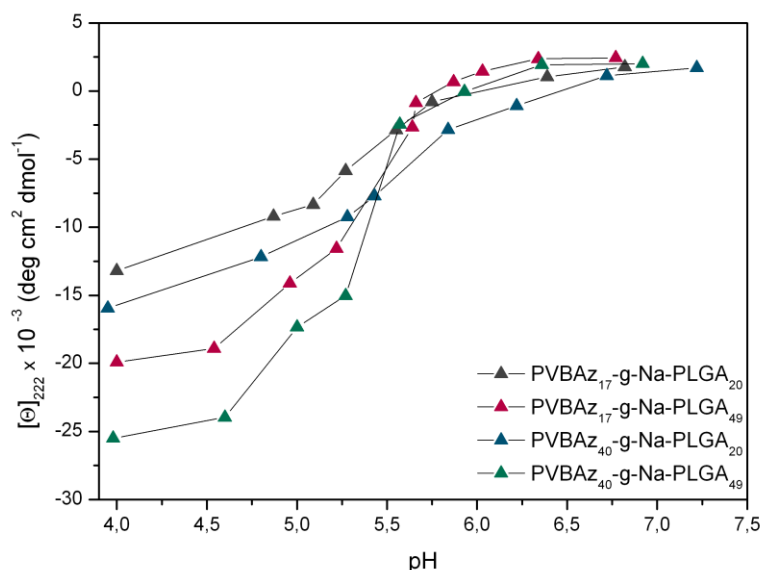


Abbildung 7.19: Auftragung der molaren Elliptizitäten bei  $\lambda = 222$  nm gegen die pH-Abhängigkeit der PLGA-haltigen Pfropfcopolymeren.

Qualitativ kann mit steigendem Polymerisationsgrad ( $P_n$ ) der Seitenkette sowie mit der Anzahl an kovalent gebundenen Seitenketten ein zunehmender  $\alpha$ -helicaler Anteil im Pfropfcopolymer ( $\text{pH} < 4,5$ ) beobachtet werden. Der Übergang zwischen Helix und Knäuel findet bei allen Polymerproben infolge eines kooperativen Prozesses in einem sehr engen pH-Bereich von etwa 5,5 - 5,6 statt und stimmt mit den Literaturwerten für lineares PLGA-Homopolymer in 0,01 M NaCl-Lösung ( $\text{pH} = 5,6$ <sup>[250]</sup>) überein. Somit scheinen die strukturellen Eigenschaften eines PLGA-haltigen Pfropfcopolymers sich nicht auf den Helix-Knäuel Übergang auszuwirken. Für eine quantitative Aussage über die prozentualen Anteile der beiden Sekundärstrukturen ( $\alpha$ -Helix, Knäuel) wird typischerweise die molare Elliptizität bei der Wellenlänge von 222 nm verwendet und nach MORROW et al. berechnet.<sup>[243]</sup> Für die beiden Polymere PVBAz<sub>40</sub>-g-Na-PLGA<sub>49</sub> und PVBAz<sub>17</sub>-g-Na-PLGA<sub>49</sub> mit der längeren PLGA-Seitenkette wurde ein Helix-Anteil von 58 % bzw. 41 % bestimmt. Der größere Helix-Anteil im PVBAz<sub>40</sub>-g-Na-PLGA<sub>49</sub> resultiert aus der größeren Anzahl kovalent gebundener PLGA-Seitenketten an das Rückgrat. Der Anteil der  $\alpha$ -helicalen Konformation nimmt im Polymer PVBAz<sub>17</sub>-g-Na-PLGA<sub>20</sub> (26 %  $\alpha$ -Helix) sowie PVBAz<sub>40</sub>-g-PLGA<sub>20</sub> (33 %  $\alpha$ -Helix)



mit der kürzeren PLGA-Seitenkette ( $P_n = 20$ ) wie erwartet ab. Die Werte des prozentual berechneten Anteils der Sekundärstruktur beziehen sich dabei alle auf die molare Elliptizität bei einem pH-Wert von 4,0.

Die Resultate aus den CD-Messungen der Pfropfcopolymere mit PBLG-Seitenketten in HFIP und mit PLGA-Seitenketten in Wasser ergeben für den prozentualen  $\alpha$ -helicalen Anteil unterschiedliche Werte. Die geschützten Pfropfcopolymere zeigen im Vergleich zu den entschützten Pfropfcopolymeren einen deutlich höheren  $\alpha$ -helicalen Anteil. Die  $\alpha$ -Helicität im PBLG-haltigen Pfropfcopolymer in Gegenwart des helicogenen Lösungsmittel HFIP beträgt in Abhängigkeit vom Molekulargewicht der PBLG-Seitenkette 44 bis 92 % (Vgl. Kapitel 7.1.3, Tabelle 7.4, S.145). Im wässrigen Medium wird dagegen eine  $\alpha$ -helicale Sekundärstruktur der PLGA-haltigen Pfropfcopolymere mit einem prozentualen Anteil von 26 bis 58 % ausgebildet. Die Änderung der Seitenkette von PBLG zu PLGA scheint einen großen Einfluss auf die Ausbildung der  $\alpha$ -Helix zu haben. Wie die Ergebnisse aus der GPC-Analytik bereits angedeutet haben, neigen die Pfropfcopolymere aufgrund nicht-kovalenter Wechselwirkungen und sterischer Effekte in Lösung dazu leicht zu aggregieren. Im wässrigen Medium konnte eine Aggregation der Polymere selbst unter Zugabe von Salz nicht vollständig unterdrückt werden. Möglicherweise kann daher die  $\alpha$ -Helix durch die Assoziation der Polymerketten und zusätzlich auftretende Wechselwirkungen zwischen den Carboxylgruppen benachbarter PLGA-Ketten nicht vollständig stabilisiert werden. Wenn die Protonierung im sauren Milieu einiger negativ geladener Carboxylgruppen durch die Assoziation abgeschirmt wird, können sich in diesem Bereich keine intramolekularen Wasserstoffbrückenbindungen entlang der PLGA-Seitenkette ausbilden und die Stabilität der  $\alpha$ -helicalen Konformation nimmt ab. Nach HAYASHI und WADA wird ein zweiter Übergang von PLGA bei einem pH-Wert von 4,3 beschrieben.<sup>[250]</sup> Es handelt sich hierbei um einen zweiten Übergang von einem geordneten in einen ungeordneten Zustand, bei dem Wasserstoffbrückenbindungen zwischen jeder dritten oder vierten benachbarten Carboxylgruppe entlang der PLGA-Kette gebildet werden, wobei die  $\alpha$ -helicale Konformation der Hauptkette nicht beeinträchtigt wird. In diesem pH-Bereich spielen primär die Wasserstoffbrückenbindungen anstatt der elektrostatischen Wechselwirkungen eine Rolle. Wird dieses Modell auf Pfropfcopolymere mit PLGA-Seitenketten angewandt, kann in Betracht gezogen werden, dass solche Wasserstoffbrückenbindungen durch die hohe lokale Dichte an Seitenketten vermehrt ausgebildet werden und womöglich auch mit den

benachbarten Seitenketten wechselwirken, so dass die Stabilität der  $\alpha$ -helicalen Konformation ebenfalls beeinträchtigt wird.

### DLS-Messungen

Die Bestimmung der hydrodynamischen Größe der Strukturen im wässrigen Medium (pH  $\sim$  6,5) erfolgte mittels dynamischer Lichtstreuung an den Polymerlösungen. Um die elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen den ionisch geladenen Polymerketten zu unterdrücken, erfolgte die Herstellung der zu vermessenden Lösungen unter Zugabe von Salz (NaCl) mit einer Konzentration von 0,1 M. Exemplarisch sind in Abbildung 7.20 die Partikelgrößenverteilungen von zwei Polymeren, die sich im Molekulargewicht der Seitenkette sowie in der Länge des Rückgrats unterscheiden, gezeigt.

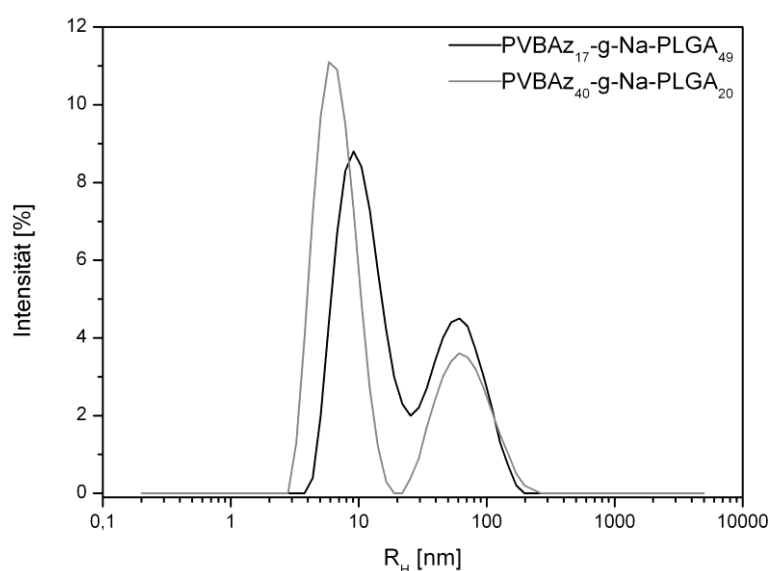


Abbildung 7.20: Partikelgrößenverteilung der hydrodynamischen Radien ( $R_H$ ) für die beiden Polymere PVBAz<sub>17</sub>-g-Na-PLGA<sub>49</sub> und PVBAz<sub>40</sub>-g-Na-PLGA<sub>20</sub> in Wasser unter Zugabe von NaCl (0,1 M).

Beide Partikelgrößenverteilungen sind bimodal, deren Hauptpeaks einem hydrodynamischen Radius von 7 nm für PVBAz<sub>40</sub>-g-Na-PLGA<sub>20</sub> und 11 nm für PVBAz<sub>17</sub>-g-Na-PLGA<sub>49</sub> entsprechen. Zusätzlich wurde ein geringer Anteil an größeren Teilchen mit einem langsameren Diffusionsprozess in beiden Polymerlösungen gefunden. Diese Teilchen resultieren aus der Assoziation der Polymerketten in Lösung und haben einen durchschnittlichen  $R_H$  von etwa 62 nm. Die Zugabe einer weiteren Menge an NaCl, um die Assoziation zu minimieren, zeigte keine Veränderung hinsichtlich der Größe der Aggregate. Aufgrund des Bezugs der Streuintensität zur Teilchengröße ( $d^6$ -Relation) ist der Anteil der

größeren Teilchen sehr gering. Um einen Vergleich zur GPC-Messung im wässrigen Medium ziehen zu können, wurde für die Größenbestimmung der Teilchen ebenfalls ein pH-Wert von 7,5 eingestellt. Exemplarisch ist die Partikelgrößenverteilung der Probe PVBAz<sub>40</sub>-g-Na-PLGA<sub>20</sub> in Abbildung 7.21 dargestellt.

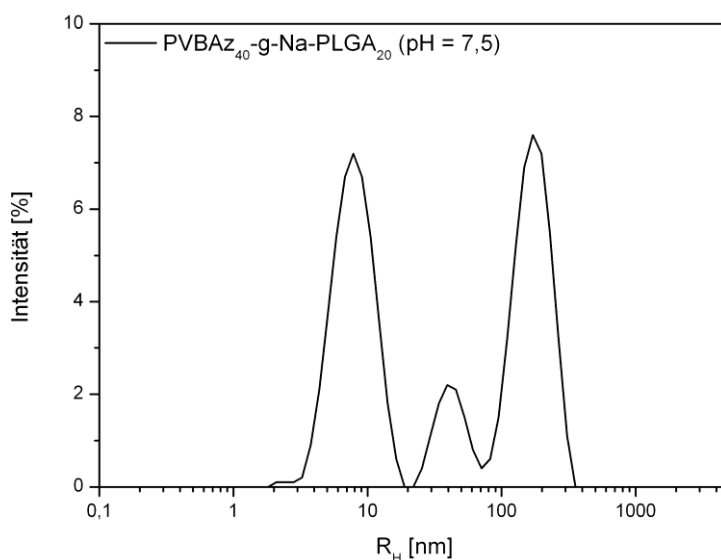


Abbildung 7.21: DLS-Messung von PVBAz<sub>40</sub>-g-Na-PLGA<sub>20</sub> in Wasser unter Zugabe von NaCl (0,1 M) bei einem pH-Wert von 7,5.

Die Erhöhung des pH-Wertes auf 7,5 führt zur Bildung von noch größeren Teilchen mit einem  $R_H$  von 175 nm. Zudem ist der Anteil dieser Teilchen sehr groß. Wie bereits mittels GPC-Analytik vermutet wurde, kann nun die Bildung von Aggregaten bestätigt werden. Die Zugabe von NaCl führt nicht zur gewünschten Unterdrückung dieser Aggregation. Weitere Untersuchungen bezüglich der Größenänderung der Aggregate durch den Helix-Knäuel Übergang mit Änderung des pH-Wertes wurden daher nicht weiter verfolgt. Es konnte in allen Polymerlösungen beobachtet werden, dass ein gewisser Anteil an assoziierten Teilchen anwesend ist.

### 7.3 Zusammenfassung

Über den „*grafting-onto*“-Ansatz konnten PBLG-haltige Pfropfcopolymere mit engen Molekulargewichtsverteilungen ( $PD < 1,2$ ) hergestellt werden. Die Synthese erfolgte über die kovalente Anbindung von propargyl-endfunktionalisierten PBLG-Seitenketten mittels „Click-Chemie“ an PVBAz als multifunktionelles Rückgrat mit definierter Anzahl an Azidgruppen. Für die Untersuchungen der Pfropfdichte wurde die Länge von PVBAz als Rückgrat ( $P_n = 17$  und  $40$ ) sowie die Länge der PBLG-Seitenkette ( $P_n = 16$  bis  $49$ ) variiert. Es konnte festgestellt werden, dass die Pfropfdichte aufgrund sterischer Effekte mit zunehmendem Molekulargewicht der PBLG-Seitenkette und zunehmender Länge des Rückgrats (PVBAz mit  $P_n = 40$ ) von  $64$  auf  $43$  % abnimmt. Im Gegensatz dazu konnten Pfropfcopolymere mit dem kürzeren Rückgrat (PVBAz mit  $P_n = 17$ ) unabhängig vom Molekulargewicht der PBLG-Seitenkette mit Pfropfdichten in einem nahezu konstanten Bereich zwischen  $64$  und  $74$  % hergestellt werden. Die Pfropfdichten sind wegen der Aggregation überbestimmt.

Bei der Charakterisierung der hydrodynamischen Größe der Aggregate in Lösung mittels DLS konnte eine Abhängigkeit vom Molekulargewicht der Seitenkette sowie der Anzahl an kovalent gebundenen Seitenketten an PVBAz mit  $P_n = 17$  und  $40$  festgestellt werden. Insgesamt wurden für die PBLG-haltigen Pfropfcopolymere in Lösung Aggregate mit einem hydrodynamischen Radius im Bereich von  $4$  bis  $11$  nm bestimmt. Die Charakterisierung der vorliegenden Molekülgestalt der Pfropfcopolymere im Polymerfilm mittels AFM-Technik konnte die Bildung von großen Aggregaten in Form von sphärischen bzw. ellipsoidischen Partikeln nachweisen. Aufgrund der großen Dimensionen mit einem Durchmesser von  $80$  bis  $142$  nm und einer Höhe von  $11$  bis  $42$  nm ist von einer Assoziation der Polymerketten im Film auszugehen, so dass keine Aussagen über die tatsächliche Gestalt der einzelnen Pfropfcopolymermoleküle gemacht werden konnten.

Für die Untersuchung der Sekundärstrukturen der Pfropfcopolymere im wässrigen Medium wurden nach der Entfernung der Schutzgruppe die PLGA-haltigen Pfropfcopolymere in Abhängigkeit des pH-Wertes mittels CD-Spektroskopie charakterisiert. Die strukturellen Eigenschaften der PLGA-haltigen Pfropfcopolymere zeigen keinen Einfluss auf den Helix-Knäuel Übergang und bestätigen somit den pH-Wert von  $5,6$  für lineares PLGA-Homopolymer. Der  $\alpha$ -helicale Gehalt ist nicht nur abhängig vom Molekulargewicht der PLGA-Seitenkette sondern auch von der Anzahl der Seitenketten im Pfropfcopolymer.

Zudem ist die Helicität im Pfropfcopolymer mit PBLG-Seiten in HFIP (44 bis 92 %) deutlich ausgeprägter als im entschützten PLGA-haltigen Pfropfcopolymer (26 bis 58 %). Hier konnte ein Einfluss des wässrigen Mediums, vermutlich durch die Bildung von intramolekularen Wasserstoffbrückenbindungen zwischen den benachbarten Carboxylgruppen auf die Sekundärstruktur verursacht, beobachtet werden. Eine genaue Charakterisierung der Form und Größe der Aggregate in Abhängigkeit des pH-Wertes war aufgrund der Assoziation der PLGA-Ketten nicht möglich. Um genaue Aussagen über die Größe und Form der Aggregate treffen zu können, sollten zunächst die Einflussgrößen (Temperatur, Salzkonzentration, Lösungsmittel) für die Unterdrückung der Assoziation der PLGA-Ketten in weiteren Untersuchungen optimiert werden.

## 8 Zusammenfassung und Ausblick

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Synthese und Charakterisierung von komplexen PBLG-haltigen Strukturen mit unterschiedlichen Architekturen. Zur Verwirklichung des Ziels wurde endfunktionalisiertes PBLG als stäbchenförmiges Modellpolymer zum einen über die amin-initiierte NCA Polymerisation und zum anderen über die Nickel-katalysierte NCA Polymerisation hergestellt. Die Darstellung von endfunktionalisierten PBLGs mit großen Molekulargewichten wurde mit einem bifunktionellen Initiator realisiert. Dieser enthält eine Nickel-Amido-Amidat-Funktion für die Nickel-initiierte NCA Polymerisation sowie eine weitere andere Funktionalität, die nach erfolgter NCA Polymerisation am Ende des PBLGs verbleibt. Es wurden Molekulargewichte im Bereich zwischen 12000 und 40000 g/mol und Polydispersitäten von 1,04 bis 1,59 erhalten. Endfunktionalisierte PBLGs mit kleineren Molekulargewichten zwischen 3400 und 11500 g/mol sowie engen Molekulargewichtsverteilungen ( $PD = 1,02 - 1,30$ ) wurden über die amin-initiierte NCA Polymerisation hergestellt. Beide Methoden zur Synthese von PBLG resultierten in Polymeren mit monomodalen Verteilungen. Die Anwesenheit einer Endgruppe mittels  $^1\text{H-NMR}$  sowie MALDI-ToF konnte analysiert und bestätigt werden. Eine bessere Kontrolle über die Molekulargewichtseinstellung wurde vergleichsweise mit der amin-initiierten NCA Polymerisation erreicht.

Zur Darstellung von PBLG-haltigen Stäbchen-Knäuel Blockcopolymeren wurde ein bifunktionseller Initiator eingesetzt. Der Initiator enthält neben der Nickel-Amido-Amidat-Spezies zur Initiierung der NCA Polymerisation noch eine funktionelle Gruppe für die NMP von Vinylmonomeren. Zur Überprüfung des kontrollierten Charakters der NMP von Styrol wurden kinetische Untersuchungen mit und ohne PBLG-Makroinitiator unter Verwendung verschiedener Nitroxide (BIPNO, TIPNO und TEMPO) durchgeführt. In der NMP wird mit und ohne PBLG-Makroinitiator der für eine kontrollierte Polymerisation erwartete lineare Zusammenhang zwischen  $\ln([M]_0/[M]_t)$  und der Zeit beobachtet. Die Polymerisationsgeschwindigkeit der NMP ohne PBLG-Makroinitiator wird durch das Nitroxid beeinflusst und nimmt in der Reihenfolge von  $\text{BIPNO} > \text{TIPNO} > \text{TEMPO}$  ab. In der PBLG-makroinitiierten NMP von Styrol konnte kein Einfluss durch das Nitroxid, wohl aber durch die Kettenlänge des PBLG-Makroinitiators beobachtet werden. Die Bildung von PBLG-*b*-PS Blockcopolymer konnte mit der LACCC-Methode bestätigt werden. Allerdings wurde neben dem Blockcopolymer auch PBLG-Homopolymer detektiert. Dies spricht für eine

unvollständige Funktionalisierung des PBLG, was wiederum auf Verunreinigungen des bifunktionellen Initiators zurückgeführt werden kann.

Für die Synthese von PBLG-Sternen aus Gründen der einfachen Charakterisierbarkeit der Sternprodukte wurde der „*coupling-onto*“-Ansatz verfolgt. Mithilfe der Kupfer(I)-katalysierten Azid-Alkin Cycloaddition (CuAAC) wurden propargyl-endfunktionalisierte PBLG-Arme kovalent an multifunktionelle Verknüpfungsreagenzien mit 2, 4 bzw. 6 Azidgruppen gebunden. Es konnte festgestellt werden, dass mit zunehmendem Molekulargewicht des PBLG-Arms ( $M_n = 3400 - 11500$  g/mol), wegen der zunehmenden sterischen Hinderung, die Kupplungseffektivität abnimmt. Für die Isolierung reiner PBLG-Sterne wurden verschiedene Methoden zum Abtrennen von PBLG-Homopolymer untersucht. Mittels Dialyse konnte erfolgreich die Verunreinigung von Homopolymer entfernt werden und es resultierten PBLG-Sterne mit engen und monomodalen Molekulargewichtsverteilungen ( $PD < 1,13$ ). Die Synthese von PBLG-Sternen mit maximal 6 Armen ist mit einem Molekulargewicht pro PBLG-Arm bis zu 6100 g/mol möglich. Die kovalente Anbindung von längeren PBLG-Armen resultiert hingegen in Sternpolypeptiden mit unvollständiger Anzahl an Armen.

PBLG-haltige Pfropfcopolymere konnten erfolgreich über die „Click-Chemie“ von propargyl-endfunktionalisiertem PBLG und multifunktionellem Polymer mit Azidgruppen synthetisiert werden. Für die Untersuchung des Einflusses auf die Pfropfdichte wurden die Länge der Seitenkette sowie die Länge des Rückgrats variiert. Bei Verwendung des Rückgrats PVBAz mit einem  $P_n$  von 40 konnte mit zunehmender Länge der PBLG-Seitenkette ein Einfluss auf die Pfropfdichte beobachtet werden. Wird hingegen das PVBAz mit einem  $P_n$  von 17 als Rückgrat verwendet, werden PBLG-Bürsten mit konstanten Pfropfdichten erhalten. Die hydrodynamischen Radien der Aggregate mit Größen zwischen 4 und 11 nm wachsen mit zunehmender Länge der PBLG-Seitenkette, sowie mit zunehmender Anzahl an Seitenketten. Aufgrund der Ergebnisse von AFM-Aufnahmen können keine Aussagen über die Konformation eines einzelnen Pfropfcopolymers getroffen werden, da die Polymerketten zu großen Aggregaten mit sphärischer Struktur assoziieren. In CD-Messungen wurde die helicale Struktur der PBLG-haltigen Pfropfcopolymere nachgewiesen, die zudem molekulargewichtsabhängig ist.

Zur Untersuchung des Aggregationsverhaltens in wässriger Lösung wurden die PBLG-haltigen Pfropfcopolymere untersucht. Die PVBAz-*g*-Na-PLGA Pfropfcopolymere zeigten in Abhängigkeit des pH-Wertes den erwarteten Helix-Knäuel Übergang des Polypeptids. Der  $\alpha$ -helicale Anteil in PLGA-Bürsten ist im Vergleich zu den geschützten PBLG-Bürsten geringer. Als mögliche Ursache wurde die Assoziation der PLGA-Ketten vermutet, die sich störend auf die Ausbildung der  $\alpha$ -Helix auswirken könnte. Weitere Untersuchungen hinsichtlich der gleichzeitigen Änderung des hydrodynamischen Radius in Abhängigkeit vom pH-Wert konnten aufgrund des starken Assoziationsverhaltens der PLGA-haltigen Pfropfcopolymere mittels DLS-Messungen nicht erfolgen.

Eine wichtige Voraussetzung für die Synthese von wohldefinierten peptidhaltigen Strukturen als Modellsysteme ist ein hoher Funktionalisierungsgrad. Die wichtige Komponente im System für die Synthese von Stäbchen-Knäuel Blockcopolymeren stellt der bifunktionelle Initiator dar. Bei der hier durchgeführten Synthese des bifunktionellen Initiators besteht allerdings noch Optimierungsbedarf. In der Arbeit konnten Verunreinigungen im bifunktionellen Initiator festgestellt werden, welche sich auf den Funktionalisierungsgrad und damit verbunden auf die Effektivität des Initiators in einer kontrollierten Polymerisation auswirken. Die Synthese der PBLG-Makroinitiatoren, hergestellt über die Nickel-initiierte NCA Polymerisation resultierte häufig in hohen Molekulargewichten. Für einen Nachweis der Endgruppe mittels MALDI-ToF bietet es sich daher an, möglichst kleine PBLG-Makroinitiatoren herzustellen. Zudem sollten für die Kombination der NCA Polymerisation mit der NMP effektivere Nitroxidgruppen eingeführt werden, um einen möglichen Abbau von PBLG unter den drastischen Bedingungen einer NMP zu vermeiden. Hierfür können z.B. neu entwickelte Nitroxide und Alkoxyamine von STUDER et al.<sup>[253]</sup> und GUILLANEUF et al.<sup>[254]</sup> verwendet werden, da diese schon bei Temperaturen zwischen 60 und 70 °C in der NMP eingesetzt werden können.

Für die Synthese von PBLG-haltigen Pfropfcopolymeren sollte für die Erreichung höherer Pfropfdichten anstatt eines flexiblen, ein starres Polymer als Rückgrat eingesetzt werden. Zusätzlich wäre es interessant im Hinblick auf das Selbstorganisationsverhalten und auf die strukturellen Eigenschaften, PBLG-Bürsten mit einer zylindrischen Konformation zu synthetisieren. Dafür empfiehlt es sich entweder Seitenketten mit kleineren Polymerisationsgraden oder ein längeres Rückgrat mit mehreren Azidgruppen herzustellen.



Um eine genaue Modellvorstellung hinsichtlich der molekularen Anordnung innerhalb der Strukturen entwickeln zu können, ist eine weitergehende Charakterisierung durch Röntgenstreuemessungen unerlässlich.

## 9 Experimenteller Teil

### 9.1 Materialien

#### 9.1.1 Verwendete Lösungsmittel

Tabelle 9.1: Verwendete Lösungsmittel

<i>Lösungsmittel</i>	<i>Reinheitsgrad</i>
Anisol	99 %
Chloroform	techn.
Chloroform, deuteriert, $\text{CDCl}_3$	Aldrich, 99 %
Dichlormethan	techn.
Diethylether	techn.
(N, N-) Dimethylformamid (DMF)	techn.
(N, N-) Dimethylformamid (DMF)	HPLC-grade
Dimethylsulfoxid (DMSO)	HPLC-grade
Ethylacetat (EE)	techn.
Hexan	techn.
2-Propanol	techn.
Methanol	techn.
Petrolether (PE)	techn.
Tetrahydrofuran (THF)	techn.
Trifluoressigsäure (TFA)	Sigma-Aldrich, 99 %
Trifluoressigsäure (TFA), deuteriert, $\text{CF}_3\text{COOD}$	Sigma, 99,5 %

Alle technischen Lösungsmittel wurden vor der Verwendung oder Trocknung destilliert. Anisol wurde unter Stickstoff im Kühlschrank gelagert. Tetrahydrofuran (THF) und Diethylether wurden über Natrium mit Benzophenon als Indikator getrocknet und vor der Verwendung frisch abdestilliert. Petrolether wurde über Natrium getrocknet und ebenfalls direkt vor dem Gebrauch abdestilliert. N,N-Dimethylformamid (DMF) wurde über Calciumhydrid ( $\text{CaH}_2$ ) getrocknet und bei 30 mbar destilliert, zweimal mit der „freeze-pump-thaw“-Methode entgast und unter Stickstoff bei  $-30\text{ }^\circ\text{C}$  gelagert. Abs. THF und abs. Diethylether wurden über Natrium/Benzophenon getrocknet, abdestilliert, mit der „freeze-pump-thaw“-Methode entgast und unter Stickstoff gelagert.

### 9.1.2 Verwendete Chemikalien

Tabelle 9.2: Verwendete Chemikalien

<i><b>Chemikalien</b></i>	<i><b>Hersteller</b></i>	<i><b>Reinheitsgrad</b></i>
Allylamin	Aldrich	≥ 99 %
Aluminiumoxid (Alox)	Aldrich	p.a.
Azobisisobutyronitril, ( $\alpha$ , $\alpha'$ ) (AIBN)	Acros	98 %
Benzylbromid	Aldrich	98 %
$\gamma$ -Benzyl-L-Glutamat	Fluka	> 99 %
2,2'-Bipyridyl (bpy)	Sigma-Aldrich	≥ 99 %
Bis(1,5-cyclooctadien)Nickel(0)	Strem	> 98 %
2,2'-Bis-(hydroxymethyl)-propionsäure	Aldrich	98 %
<i>tert</i> -Butylacrylat (tBA)	Aldrich	98 %
Brombenzol	Aldrich	99 %
2-Brompropan	Aldrich	99 %
Calciumhydrid	Aldrich	90-95%
Chlorameisensäureallylester	Fluka	≥ 97 %
3-Chloropropylaminohydrochlorid	Aldrich	98 %
2-Chloropropionylchlorid	Aldrich	97 %
N, N'-Dicyclohexylcarbodiimid,	Acros	99 %
Dimethylaminopyridin (DMAP)	Aldrich	≥ 99 %
(N-)Hydroxysuccinimid	Acros	> 98 %
Isobutyraldehyd	Aldrich	≥ 99 %
R,R'- Jacobsen-Katalysator	Aldrich	98%
Kupfer(I)bromid (CuBr)	Fluka	98 %
Cu(OAc) <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	Sigma-Aldrich	puriss. p.a., ≥ 99 %
18-Krone-6-Ether	Acros	99%
LiAlH <sub>4</sub> -Lsg., 1,0 M in THF	Aldrich	purum
L-Leucin	Acros	99 %
Merrifield-Harz (1.5-2.0 mmol/g Cl <sup>-</sup> , 1 % vernetzt)	Aldrich	
Natriumazid	Fluka	99%
Natriumbisulfat	Fluka	purum
Natriumborhydrid	Acros	98%
Natriumchlorid	Riedel-de Haën	p.a.
Natriumhydroxid	Riedel-de Haën	p.a.
Natriumsulfat	Roth	> 99%
<i>tert</i> -Nitrobutan	Aldrich	98 %
Pentamethyldiethylentriamin (PMDETA)	Fluka	99 %
1,10-Phenanthrolin	Aldrich	99 %
Phosgen-Lsg. (20% in Toluol)	Fluka	purum

<i><b>Chemikalien</b></i>	<i><b>Hersteller</b></i>	<i><b>Reinheitsgrad</b></i>
Propargylamin	Aldrich	98 %
Salzsäure, konz.	Riedel-de Haën	p.a.
Styrol	Acros	99 %
2,2,6,6-Tetramethylpiperidinyloxyl (TEMPO)	Acros	98 %
<i>p</i> -Toluolsulfonsäure-Monohydrat	Sigma	≥ 98,5 %
Triethylamin	Acros	p.a.
Trifluoressigsäure (TFA)	Aldrich	≥ 99 %
1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)ethan	Aldrich	99 %
<i>p</i> -Vinylbenzylamin	TCI Europe	≥ 99 %
<i>p</i> -Vinylbenzylchlorid (VBC)	Acros	90 %

Die Monomere *tert*-Butylacrylat (tBA) und Styrol wurden jeweils über CaH<sub>2</sub> ca. 16 h gerührt, anschließend bei 40 mbar destilliert und unter Stickstoff bei –30 °C gelagert. PMDETA wurde vor Gebrauch destilliert und unter Stickstoff bei 7 °C gelagert. Kupfer(I)bromid wurde vor Gebrauch aus heißem Eisessig umkristallisiert, mit Ethanol gewaschen, im Vakuum getrocknet und unter Inertgasatmosphäre und Lichtausschluss aufbewahrt. Alle anderen Chemikalien wurden, wenn nicht anders vermerkt, ohne weitere Reinigung eingesetzt.

## 9.2 Verwendete Geräte

### NMR-Spektroskopie

Die  $^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren wurden im NMR-Labor des Chemieinstituts der Technischen Universität Braunschweig aufgenommen. Die Messungen wurden an einem Spektrometer der Fa. Bruker der Typen DPX 400 und AV 300 (des Typs AM 400) durchgeführt. Die  $^1\text{H}$ -Spektren wurden bei 400 MHz und die  $^{13}\text{C}$ -Spektren bei 100 MHz aufgenommen. Die Kalibrierung erfolgte relativ zum Lösungsmittelpeak des verwendeten deuterierten Lösungsmittels, das jeweils angegeben ist oder durch den internen Standard Tetramethylsilan (TMS). Die Probenkonzentration für die  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren betrug ca. 10 mg auf 0,7 mL Lösungsmittel. Für die  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren wurden ca. 50 mg/0,7 mL Probe eingesetzt.

### Infrarot-Spektroskopie (FT-IR)

Die IR-Spektren wurden an einem FT-IR-Equinox IFS 55 der Fa. Bruker aufgenommen. Feststoffe wurden als KBr-Presslinge (KBr für die IR-Spektroskopie, Aldrich  $\geq 99\%$ ) gegen Luft als Referenz vermessen. Flüssige Proben wurden in THF oder Chloroform gelöst und als Film auf einen reinen KBr-Pressling aufgetragen. Die Auswertung der IR-Spektren erfolgte mit der Opus-Spektroskopie-Software Version 4 der Fa. Bruker.

### Elementaranalyse (EA)

Die Elementaranalyse wurde am Pharmazeutischen Institut der Technischen Universität Braunschweig vorgenommen. Die **CHN**-Bestimmung erfolgte an einem Flash EA 1112-Gerät des Herstellers Thermo Quest Italia S.p.A. Die zu analysierende Substanz (1 mg) wurde ebenso wie die zur Kalibrierung verwendete Testsubstanz in kleine Zinnbecher eingewogen und in dem Oxidationsreaktor (Füllung: reduziertes Kupfer, versilbertes Cobalt(VI)oxid und Chrom(III)oxid) unter Sauerstoffatmosphäre bei 1800°C verbrannt. Bei der Verbrennung wird reiner Sauerstoff in das Trägergas (He) dosiert. Es entsteht eine „dynamische Spontanverbrennung“, welche die vollständige Oxidation der Probe garantiert. Die Verbrennungsgase werden mit einem konstanten Heliumstrom über den Reaktor geleitet. Die dabei entstehenden Stickoxide werden zu  $\text{N}_2$  reduziert,  $\text{H}_2\text{O}$  und  $\text{CO}_2$  bleiben unverändert. Dieses Gasgemisch strömt durch eine Chromatographiesäule (gefüllt mit Porapak), die die Komponenten  $\text{N}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  und  $\text{CO}_2$  vollständig trennt. Die Konzentrationen der drei Reaktionsgase werden mit dem Wärmeleitfähigkeitsdetektor gemessen und über den Rechner ausgewertet.

### **DMF-Gelpermeationschromatographie (GPC)**

Molekulargewichtsmittel und Molekulargewichtsverteilung wurden mithilfe der Gelpermeationschromatographie gekoppelt mit "Multiple Angle Laser Light Scattering" (MALLS) in DMF (membranfiltriert und entgast) mit LiBr (0,1 mol/L) auf zwei PSS GRAM Säulen (1000 Å, 10 µm, 8.0 x 300 mm, PSS-Polymer Standards Service, Mainz) bei 60 °C und einer Flussrate von 0,5 mL/min bestimmt. Die Detektion wurde mit einem Brechungsindexdetektor der Marke Shodex-RI-101 bei 45 °C und einem Lichtstreudetektor der Marke TriStar MiniDawn von Wyatt Technology (Winkel 30°, 90° und 120°, Laser-Wellenlänge: 690 nm) durchgeführt.

### **THF-Gelpermeationschromatographie (GPC)**

Die Bestimmung der Molekulargewichte und Molekulargewichtsverteilungen der Polymere (PVBC, PtBA) erfolgte mittels Gelpermeationschromatographie auf zwei PL-Gel Mixed-C Säulen (5 µm) in THF (membranfiltriert und entgast, Flussrate von 0,5 mL/min, temperiert bei 40 °C) kalibriert mit PS-Standards. Die Detektion wurde mit einem Brechungsindexdetektor der Marke SFD RI2000-F (Schambeck) bei 35 °C und einem UV-Detektor (Kronwald Labomatic 1000) bei einer Wellenlänge von 270 nm durchgeführt.

### **H<sub>2</sub>O-Gelpermeationschromatographie (GPC)**

Molekulargewichtsmittel und Molekulargewichtsverteilung wurden mithilfe der Gelpermeationschromatographie gekoppelt mit "Multiple Angle Laser Light Scattering" (MALLS) in einem Phosphatpuffer (pH = 7,4; membranfiltriert und entgast) mit NaCl (0,14 mol/L) und 0,05 % NaN<sub>3</sub> auf PSS Suprema Säulen (1x 100 Å, 2x 3000 Å, 10 µm) bei 40 °C und einer Flussrate von 1 mL/min bestimmt. Die Detektion wurde mit einem Brechungsindexdetektor der Marke Shodex-RI-101 bei 35 °C und einem Lichtstreudetektor der Marke Dawn DSP von Wyatt Technology (18 Winkel, Laser-Wellenlänge: 632 nm) durchgeführt.

### **Rasterkraftmikroskopie, Atomic Force Microscopy (AFM)**

Die AFM-Aufnahmen wurden von Dr. Wibke Dempwolf am Institut für Physikalische Chemie der Technischen Universität Clausthal an einem Gerät Multi Mode<sup>TM</sup> Scanning Probe Microscope Nano Scape III der Fa. Digital Instruments im Tapping-Mode<sup>TM</sup> vorgenommen. Als Substrat wurden Mica-Discs (Muscovite Mica V-1 Quality, D = 9,5 mm, Science Service) verwendet. Mithilfe eines Klebestreifens wurde eine dünne Mica-Schicht abgezogen, so dass eine ebene und saubere Mica-Schicht als Untergrund für die Polymerprobe zur Verfügung

stand. Die Polymerlösung (ca. 80  $\mu\text{L}$ ) wurde mit dem *spin-coating* Verfahren auf Mica aufgebracht und an Luft getrocknet. Für die Auswertung der AFM-Daten wurde die Software NanoScope® III Version 5.13r9 der Fa. Digital Instrument verwendet.

### **Differential Scanning Calorimetry (DSC)**

Die Schmelzpunkte wurden an einem Gerät des Typs DSC 204 Phoenix der Fa. Netzsch mit einer Heizrate von 10 K/min ermittelt. Die Auswertung erfolgte mit der Netzsch Proteus Software Version 4.2.

### **Chromatographie am kritischen Punkt der Adsorption (LACCC, Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung, BAM)**

Kritische Chromatographie wurde an der Bundesanstalt für Materialforschung und -prüfung (BAM), Berlin, von Dr. Jana Falkenhagen durchgeführt. Es wurde ein Hewlett Packard RP-System (HP 1090) mit einem ELSD Detektor 1000 (Polymer Laboratories) verwendet. Als Trennsäule wurde YMC RP 18 300 Å, 250 x 3 mm mit einer Porengröße von 120 Å eingesetzt. Es wurden jeweils 10  $\mu\text{l}$  einer 1,5 Gew.-% Polymerlösung injiziert und bei 45 °C mit einer Flussrate von 0,5 ml/min vermessen. Als Eluent wurde eine Mischung aus ACN/THF in einem Verhältnis von 53/47 (v/v) für 0 – 3,5 min, anschließend von 3,5 bis 5 min graduell auf 60 % THF erhöht, eingesetzt.

### **Gaschromatographie (GC)**

Die Kinetikuntersuchungen erfolgten mit einem HP 4700 Series II mit einem FID- und WLD-Detektor und einer Kapillarsäule HP1 (crosslinked Methylsilicone Gum; 50 m x 0,32 mm x 0,52  $\mu\text{m}$  Filmdicke). Die Datenaufnahme und Auswertung erfolgte mit der Software Clarity Lite der Fa. DataApex. Die Chromatographiebedingungen sind in Tabelle 9.3 angegeben.

Tabelle 9.3: Chromatographiebedingungen

Luft	Vordruck: 285 kPa
Wasserstoff	Vordruck: 100 kPa
Helium	Vordruck: 410 kPa
Säulenvordruck	70 kPa
Volumenstrom	1,05 mL/min
Split	1:150
Injektionsvolumen	0,5 µL
Injektionstemperatur	200 °C
Temperaturprogramm	6 min 60 °C; 10 °C/min 200 °C; 5 min 200 °C; 20 °C/min 250 °C; 5 min 250 °C
<b>WLD</b>	
Aux. Gas	10 mL/min
Ref. Gas	37 mL/min
Temperatur	200 °C
<b>FID</b>	
Luft	400 mL/min
Wasserstoff	42 mL/min
Temperatur	200 °C

### Cirkulardichroismus (CD)

Messungen des Cirkulardichroismus wurden am Institut für Pharmazeutische Technologie der Technischen Universität Braunschweig an einem Spektrometer J-175 der Fa. Jasco durchgeführt. Dazu wurden Polymerlösungen mit einer Konzentration von 0,2 mg/mL in einer Quarzküvette mit einer Dicke von 0,1 cm bei Raumtemperatur vermessen. Die Spektren wurden in einem Wellenlängenbereich zwischen 250 und 190 nm aufgenommen. Jedes Spektrum repräsentiert eine Durchschnittsmessung von 6 Wiederholungen. Die Messungen wurden anschließend um das Spektrum des reinen Lösungsmittels korrigiert. Die Elliptizität (bezogen auf die Monomereinheit) wurde nach folgender Gleichung berechnet:

$$[\Theta]_{\text{MRW}} = (\Theta \cdot M_{\text{MRW}}) / (10 \cdot c \cdot l)$$

mit Elliptizität  $\Theta$  in mdeg, Molekulargewicht  $M_{\text{MRW}}$  in g/mol, Massenkonzentration  $c$  in mg/mL und der Länge der Küvette  $l$  in cm.

Die Berechnung der Helicität  $\alpha$ , bezogen auf den Wert der Elliptizität bei  $\lambda = 222 \text{ nm}$ ,<sup>[243]</sup> erfolgte nach folgender Gleichung:

$$f_{\alpha} = (-[\Theta_{222}]_{\text{MRW}} + 3000) / 39000$$



**Dynamische Lichtstreuung (DLS)**

Messungen der Partikelgröße wurde an einem Gerät Zetasizer Nano ZS der Fa. MALVERN Instruments vorgenommen. Für die Bestimmung der Partikelgröße im wässrigen Medium wurden die Polymerlösungen mit einer Konzentration 1 mg/mL bei Raumtemperatur in Einwegküvetten (DTS0012, Malvern) vermessen. Die Messungen der Polymerlösungen im Lösungsmittel DMF wurden in Glasküvetten (PCS1115, Malvern) bei 60 °C durchgeführt. Die Auswertung der Daten erfolgte mit der MALVERN Zetasizer Software der Version 6.32.

**MALDI-ToF Massenspektrometrie**

Die Aufnahme der Massenspektren erfolgte am Institut für Technische Chemie der Technischen Universität Clausthal. Die Massenspektren wurden mit einem Gerät der Fa. Bruker Biflex III aufgenommen. Das Gerät ist ausgestattet mit einem 337 nm Stickstofflaser und einem Flugrohr von 125 cm Länge. Es verfügt über eine „pulsed ion extraction“. Die Detektion erfolgt mithilfe eines „multichannel plate“. Es wurden positive Ionenspektren im linearen Modus mit 20 kV Beschleunigungsspannung aufgenommen.

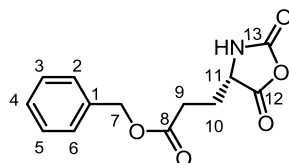
## 9.3 Synthesen

### 9.3.1 Monomersynthese

#### Synthese von $\gamma$ -Benzyl-L-glutamat-*N*-Carboxyanhydrid ( $\gamma$ -BLG-NCA)

Die Darstellung von  $\gamma$ -BLG-NCA erfolgt in Anlehnung an die Vorschrift von FULLER<sup>[255]</sup>. In einem 100 mL Dreihalskolben mit Rückflusskühler wurden unter N<sub>2</sub>-Atmosphäre und Feuchtigkeitsausschluss zu einer Suspension von 5,00 g (0,021 mol)  $\gamma$ -Benzyl-L-glutamat in 50 mL trockenem THF 13,9 mL Phosgen-Lösung (20% in Toluol, 0,027 mol, 1,25 eq) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde für 1,5 h bei 65 °C gerührt, wobei sich eine klare Lösung bildete. Die Lösung wurde noch heiß in ca. 100 mL frisch getrockneten PE gegeben, mit Stickstoff für 20 min gespült und über Nacht bei -30 °C unter Stickstoff gelagert. Der weiß, kristalline Feststoff wird abfiltriert und mit ca. 200 mL trockenem PE gewaschen, unter Hochvakuum getrocknet und unter Vakuum bei -30 °C gelagert.

**Ausbeute:** 4,7 g (17,34 mmol), 83 %



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  in ppm): 2.08 (m, 1 H, H-10a), 2.24 (m, 1 H, H-10b), 2.58 (t,  $J$  = 7 Hz, 2 H, H-9), 4.38 (t,  $J$  = 6 Hz, 1 H, H-11), 5.14 (s, 2 H, H-7), 6.54 (br. s, 1 H, NH), 7.32 (m, 5 H, ArH)

**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  in ppm): 26.91 (C-10), 29.87 (C-9), 56.94 (C-11), 67.12 (C-7), 128.36 (C-2 und C-6), 128.60 (C-4), 128.70 (C-3 und C-5), 135.18 (C-1), 151.74 (C-12), 169.32 (C-13), 172.38 (C-8)

### 9.3.2 Synthese der Amin-Initiatoren

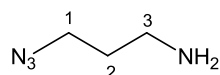
#### Synthese von 1-Azido-3-Aminopropan

Die Synthese der Verbindung erfolgte nach einer bereits beschriebenen Vorschrift.<sup>[256]</sup>

Zu einer Lösung aus 2 g (15,4 mmol) Chloropropylaminohydrochlorid in 25 mL H<sub>2</sub>O wird 3,8 g (58,5 mmol) NaN<sub>3</sub> gegeben und für 16 h unter Rückfluss bei 80 °C gerührt. Die Reaktionslösung wird am Rotationsverdampfer eingedunstet und der Rückstand in einem Eisbad

abgekühlt. Anschließend wird zur Reaktionsmischung 50 mL Diethylether und 2,2 g KOH bei einer Temperatur unter 10 °C gegeben. Die wässrige Phase wird noch dreimal mit 20 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wird entfernt.

**Ausbeute:** 1,01 g (0,01 mol), 66 % (öliges Produkt)



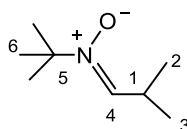
**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  in ppm): 1.31 (br. s, 2 H, NH<sub>2</sub>), 1.73 (qi,  $J$  = 6,8 Hz, 2 H, H-2), 2.81 (t,  $J$  = 6,8 Hz, 2 H, H-3), 3.38 (t,  $J$  = 6,7 Hz, 2 H, H-1)

### 9.3.2.1 Synthese der Nitroxide

#### Synthese von N-*tert*-Butyl- $\alpha$ -isopropylnitron<sup>[215]</sup>

25 g *tert*-Nitrobutan (242 mmol), 17,5 g Isobutyraldehyd (242 mmol) und 15 g NH<sub>4</sub>Cl (280 mmol) werden in 500 ml Wasser und 250 ml Diethylether gelöst und auf 0 °C gekühlt. Bei dieser Temperatur werden unter starkem Rühren 65 g Zinkpulver (1 mol) in kleinen Portionen über 1 h hinzugegeben. Der Ansatz wird über Nacht in einem großen Eisbad gerührt. Der Feststoff wird abfiltriert und mit 500 mL Methanol gewaschen. Das Filtrat wird viermal mit je 250 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit 300 ml ges. Kochsalzlösung gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt. Das erhaltene Rohprodukt wird bei -30 °C aus Petrolether kristallisiert.

**Ausbeute:** 24,94 g (0,174 mol), 72 % (farbloses Öl, das im Kühlschrank erstarrt)

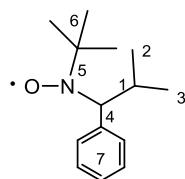


**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  in ppm): 1.11(d, 6 H, H-2 und H-3), 1.48 (s, 9 H, H-6), 3.18 (m, 1 H, H-1), 6.63 (d, 1 H, H-4)

**Synthese von 2,2,5-Trimethyl-4-phenyl-3-azahexan-3-oxyl (TIPNO)**<sup>[215]</sup>

In einem ausgeheizten Dreihalskolben mit Rückflusskühler werden unter Stickstoff 11,23 g (0,46 mol) Magnesiumspäne in 80 mL abs. Diethylether vorgelegt. Unter Rühren wird eine Lösung von 48,7 mL (1 mol) Brombenzol und 80 mL abs. Diethylether langsam zugetropft, so dass die Reaktionslösung leicht siedet. Es wird eine Stunde gerührt bis das Magnesium sich vollständig gelöst hat. Die Lösung wird langsam zu einer Lösung von 26,22 g (183 mmol) *N-tert*-Butyl- $\alpha$ -isopropylnitron in 200 mL abs. THF in einem Dreihalskolben mit Rückflusskühler gegeben. Es wird 16 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Unter Rühren wird langsam bei 0 °C eine Lösung aus 50 mL gesättigter NH<sub>4</sub>Cl-Lösung verdünnt mit 150 mL Wasser zugegeben. Die wässrige Phase wird von der organischen Phase abgetrennt und dreimal mit 150 mL Diethylether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden am Rotationsverdampfer eingengt und zu einer Mischung aus 1 L Methanol mit 75 mL konz. NH<sub>3</sub>-Lösung und 2,3 g (13 mmol) Cu(OAc)<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O gegeben. Es wird 45 Minuten mit Luft gespült bis die Farbe von gelb zu schwarz/grün umschlägt. Das Methanol wird am Rotationsverdampfer eingengt und mit einer Lösung aus 75 g Natriumbisulfat und 250 mL Wasser versetzt. Es wird mehrmals mit Chloroform (insgesamt ca. 300 mL) extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit gesättigter NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gewaschen und anschließend über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel und einem Laufmittel aus PE und EE (20 : 1) gereinigt.

**Ausbeute:** 12,85 g (58 mmol), 32 % (rotes Öl, das im Kühlschrank kristallisiert)



**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  in ppm, in Gegenwart von Pentafluorphenylhydrazin): 0.58 (d, 3 H, H-3), 0.92 (s, 9 H, H-6), 1.13 (d, 3 H, H-2), 2.28 (m, 1 H, H-1), 3.38 (d, 1 H, H-4), 7.5 (m, 5 H, H-7)

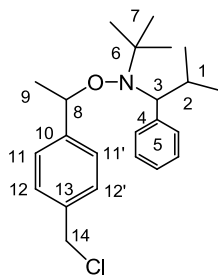
Die Synthesebeschreibung für BIPNO erfolgt analog zu der oben beschriebenen Synthese von TIPNO. Anstatt Brombenzol wird für die Grignardreaktion 2-Brompropan eingesetzt.

The diagram shows the chemical structure of a 2,2,3,3-tetramethylbutyl radical. The atoms are numbered as follows: 1 is the terminal methyl carbon, 2 is the adjacent methyl carbon, 3 is the carbon bearing the radical (CH), 4 is the adjacent quaternary carbon, 5 is the terminal methyl carbon of the branch on C4, 6 is the quaternary carbon of the branch on C3, and 7 is one of the methyl carbons attached to C6. The radical is represented by a dot on the oxygen atom bonded to C3.

### 9.3.2.2 Synthese der Alkoxyamine

**Synthese von 1-(4-Chloromethylphenyl)-1-(2,2,5-Trimethyl-4-phenyl-3-azahexan-3-oxyl)  
(Cl-PhEt-TIPNO)**

**Ausbeute:** 4,86 g (13 mmol), 72 % (öliges Produkt)



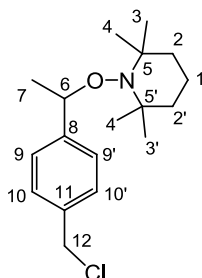
Beide Diastereomere werden annähernd im gleichen Verhältnis erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  in ppm, beide Diastereomere): 0.22 (d, ein Diastereomer,  $J = 6,6$  Hz, 3 H, H-1), 0.54 (d, ein Diastereomer,  $J = 6,6$  Hz, 3 H, H-1), 0.77 (s, ein Diastereomer, 9 H, H-7), 0.92 (d, ein Diastereomer,  $J = 6,3$  Hz, 3 H, H-1), 1.05 (s, ein Diastereomer, 9 H, H-7), 1.31 (d, ein Diastereomer,  $J = 6,3$  Hz, 3 H, H-1), 1.54 (d, ein Diastereomer,  $J = 6,7$  Hz, 3 H, H-9), 1.61 (d, ein Diastereomer,  $J = 6,6$  Hz, 3 H, H-9), 2.34 (m, beide Diastereomere, 2 H, H-2), 3.29 (d, ein Diastereomer,  $J = 10,7$  Hz, 1 H, H-3), 3.41 (d, ein Diastereomer,  $J = 10,6$  Hz, 1 H, H-3), 4.57 und 4.60 (beides s, 4 H, H-14), 4,87-4,94 (m, beide Diastereomere, 2 H, H-8), 7,14-7,47 (m, beide Diastereomere, 18 H, H-5 und H-11,11',12,12')

### Synthese von 1-(4-Chloromethylphenyl)-1-(2,2,6,6-Tetramethylpiperidinyloxy)ethyl (Cl-PhEt-TEMPO)<sup>[173]</sup>

Die Synthese von Cl-PhEt-TEMPO wird analog zur oben beschriebenen Synthese von Cl-PhEt-TIPNO durchgeführt. Anstelle von TIPNO wird das kommerziell erhältliche Nitroxid TEMPO eingesetzt.

**Ausbeute:** 3,95 g (12,8 mmol), 71 % (farbloses, öliges Produkt)

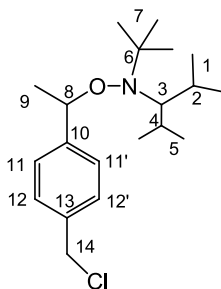


**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  in ppm): 0.66, 1.02, 1.16, 1.28 (jeweils br. s, 12 H, H-3,4,3',4'), 1.34-1.55 (m, 6 H, H-1,2',2), 1.45 (d,  $J = 7$  Hz, 3 H, H-7), 4.58 (s, 2H, H-12), 4.78 (q,  $J = 7$  Hz, 1 H, H-6), 7.29-7.35 (q, 4 H, H-9,10,9',10')

**Synthese von 1-(4-Chloromethylphenyl)-1-(2,2,5-Trimethyl-4-(isopropyl)-3-azahexan-3-oxyl (Cl-PhEt-BIPNO)**

Die Synthesevorschrift für Cl-PhEt-BIPNO erfolgt analog zur beschriebenen Synthese von Cl-PhEt-TIPNO. Für die Synthese wird das entsprechende Nitroxid BIPNO eingesetzt.

**Ausbeute:** 6 g (17,6 mmol), 98 % (farbloses, öliges Produkt)

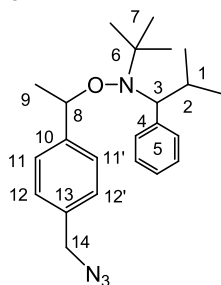


**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  in ppm): 0.80 – 1.65 (m, 21 H, H-1,5,7) 1.43 (s, 1 H, H-3), 1.48 (m, 3 H, H-9), 2.37 (m, 2 H, H-2,4), 2.50 (m, 1 H, H-3) 4.58 (s, 2 H, H-14), 4.78 (q,  $J$  = 7 Hz, 1 H, H-8), 7.29-7.35 (m, 4 H, H-11,11',12,12')

**Synthese von 1-(4-Azidomethylphenyl)-1-(2,2,5-Trimethyl-4-phenyl-3-azahexan-3-oxyl (N<sub>3</sub>-PhEt-TIPNO)<sup>[173]</sup>**

4,83 g (13 mmol) Cl-PhEt-TIPNO werden in 42 mL DMSO gelöst. Zur Reaktionslösung wird 2,54 g (39 mmol) NaN<sub>3</sub> und 53 mg (0,2 mmol) des Kronethers 18-Krone-6 gegeben und für 16 h bei 60 °C unter Rückfluss gerührt. Die gelbe Reaktionsmischung wird anschließend in 290 mL Wasser gegeben und mehrmals mit 50 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen (2x 100 mL) und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt. Anschließend wird das Rohprodukt säulenchromatographisch mit einer Mischung aus Dichlormethan/Hexan 1:1, dann mit einem Verhältnis von 2:1 gereinigt.

**Ausbeute:** 3,5 g (8,68 mmol), 67 % (N<sub>3</sub>-PhEt-TIPNO wird als gelb gefärbtes Öl erhalten)



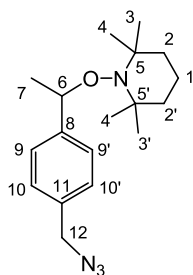
Beide Diastereomere werden annähernd im gleichen Verhältnis erhalten.

**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  in ppm, beide Diastereomere): 0.22 (d, ein Diastereomer,  $J = 6,6$  Hz, 3 H, H-1), 0.53 (d, ein Diastereomer,  $J = 6,6$  Hz, 3 H, H-1), 0.77 (s, ein Diastereomer, 9 H, H-7), 0.92 (d, ein Diastereomer,  $J = 6,3$  Hz, 3 H, H-1), 1.05 (s, ein Diastereomer, 9 H, H-7), 1.30 (d, ein Diastereomer,  $J = 6,4$  Hz, 3 H, H-1), 1.54 (d, ein Diastereomer,  $J = 6,6$  Hz, 3 H, H-9), 1.61 (d, ein Diastereomer,  $J = 6,7$  Hz, 3 H, H-9), 2.34 (m, beide Diastereomere, 2 H, H-2), 3.28 (d, ein Diastereomer,  $J = 10,7$  Hz, 1 H, H-3), 3.40 (d, ein Diastereomer,  $J = 10,6$  Hz, 1 H, H-3), 4.31 und 4.33 (beides s, 4 H, H-14), 4.91 (q, beide Diastereomere,  $J = 6,6$  Hz, 2 H, H-8), 7.15-7.48 (m, beide Diastereomere, 18 H, H-5 und H-11,11',12,12')

### Synthese von 1-(4-Azidomethylphenyl)-1-(2,2,6,6-tetramethylpiperidinyloxy)ethyl ( $\text{N}_3\text{-PhEt-TEMPO}$ )<sup>[173]</sup>

Eine Mischung aus 2,76 g (8,93 mmol) Cl-PhEt-TEMPO, 1,73 g (27 mmol)  $\text{NaN}_3$  und 36 mg des Kronethers 18-Krone-6 werden in 29 mL DMSO gelöst und unter Rückfluss für 16 h bei 60 °C gerührt. Die gelbe Reaktionsmischung wird anschließend in 200 mL Wasser gegeben und dreimal mit 35 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen (2x 50 mL) und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und das erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch mit einer Mischung aus Dichlormethan/Hexan 1:1, dann mit einem Verhältnis von 2:1 gereinigt.

**Ausbeute:** 2,10 g (6,33 mmol), 72 % (farbloses Öl)



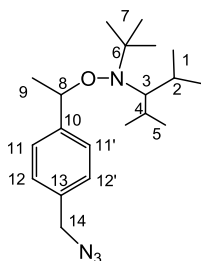
**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  in ppm): 0.63, 1.02, 1.16, 1.29 (jeweils br. s, 12 H, H-3,4,3',4'), 1.33-1.58 (m, 6 H, H-1,2',2), 1.47 (d,  $J = 7$  Hz, 3 H, H-7), 4.31 (s, 2H, H-12), 4.78 (q,  $J = 7$  Hz, 1 H, H-6), 7.25 (q,  $J = 8$  Hz, 4 H, H-9,10,9',10')



**Synthese von 1-(4-Azidomethylphenyl)-1-(2,2,5-Trimethyl-4-(isopropyl)-3-azahexan-3-oxyl) (N<sub>3</sub>-PhEt-BIPNO)**

Eine Mischung aus 2,76 g (8,93 mmol) Cl-PhEt-TEMPO, 1,73 g (27 mmol) NaN<sub>3</sub> und 36 mg des Kronethers 18-Krone-6 werden in 29 mL DMSO gelöst und unter Rückfluss für 16 h bei 60 °C gerührt. Die gelbe Reaktionsmischung wird anschließend in 200 mL Wasser gegeben und dreimal mit 35 mL Dichlormethan extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden mit Wasser gewaschen (2x 50 mL) und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und das erhaltene Rohprodukt säulenchromatographisch mit einer Mischung aus Dichlormethan/Hexan 1:1, dann mit einem Verhältnis von 2:1 gereinigt.

**Ausbeute:** 89 % (farbloses Öl)

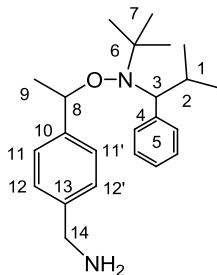


**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  in ppm): 0.80 – 1.65 (m, 21 H, H-1,5,7) 1.43 (s, 1 H, H-3), 1.48 (m, 3 H, H-9), 2.37 (m, 2 H, H-2,4), 2.50 (m, 1 H, H-3), 4.30 (s, 2 H, H-14), 4.78 (q,  $J = 7$  Hz, 1 H, H-8), 7.29-7.35 (m, 4 H, H-11,11',12,12')

**Synthese von 1-(4-Aminomethylphenyl)-1-(2,2,5-Trimethyl-4-phenyl-3-azahexan-3-oxyl) (NH<sub>2</sub>-PhEt-TIPNO)<sup>[173]</sup>**

Eine Lösung aus 3,3 g (8,68 mmol) N<sub>3</sub>-PhEt-TIPNO in 47 mL trockenem THF wird auf 0°C abgekühlt und unter N<sub>2</sub>-Atmosphäre gerührt. Zu dieser Reaktionslösung wird langsam 8,68 mL LiAlH<sub>4</sub> (1 M Lösung in THF) zugegeben und für 1,5 h bei 0°C weitergerührt. Anschließend wird die gelblich gefärbte Reaktionsmischung vorsichtig mit 2,7 mL dest. H<sub>2</sub>O versetzt und für weitere 30 min gerührt. Danach wird die Lösung vom Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> abfiltriert und der Rückstand nochmals mit THF aufgeschlämmt. Das Lösungsmittel wurde am Rotationsverdampfer vollständig entfernt.

**Ausbeute:** 2,07 g (5,84 mmol), 67 % (weißes, kristallines Produkt)



Die beiden Diastereomere liegen in einem ähnlichen Verhältnis vor.

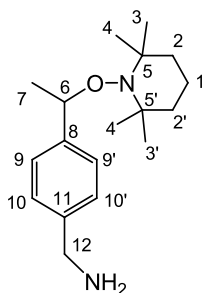
**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  in ppm, beide Diastereomere): 0.22 (d, Diastereomer,  $J = 6,6$  Hz, 3 H, H-1), 0.53 (d, Diastereomer,  $J = 6,6$  Hz, H-1), 0.77 (s, Diastereomer, H-7), 0.92 (d, Diastereomer,  $J = 6,3$  Hz, 3 H, H-1), 1.05 (s, -Diastereomer, 9 H, H-7), 1.30 (d, Diastereomer,  $J = 6,4$  Hz, H-1), 1.54 (d, Diastereomer,  $J = 6,6$  Hz, 3 H, H-9), 1.61 (d, Diastereomer,  $J = 6,7$  Hz, H-9), 2.39 (m, beide Diastereomere, 2 H, H-2), 3.28 (d, Diastereomer,  $J = 10,7$  Hz, 1 H, H-3), 3.40 (d, Diastereomer,  $J = 10,6$  Hz, H-3), 3,85 und 3,88 (beides s, 4 H, H-14), 4,91 (m, beide Diastereomere, 2 H, H-8), 7,15-7,48 (m, beide Diastereomere, 18 H, H-5 und H-11,11',12,12')

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  in ppm, beide Diastereomere): 21.12 (C-1), 21.93 (C-9), 22.00 (C-1), 23.17 (C-1), 24.68 (C-1), 28.22 (C-7), 28.39 (C-7), 31.68 (C-2), 32.02 (C-2), 45,87 (C-14), 60.40 (C-6), 60.45 (C-6) 72.22 (C-3), 82.41 (C-8), 83.28 (C-8), 126.21 (C-5), 126.37 (C-11), 126.49 (C-11), 127.00 (C-12), 127.21 (C-12), 127.32 (C-5), 127.37 (C-5), 128.40 (C-5), 130.97 (C-10), 135.73 (C-10), 142.33 (C-4), 142.61 (C-4), 145.18 (C-13), 146.10 (C-13)

### Synthese von 1-(4-Aminomethylphenyl)-1-(2,2,6,6-Tetramethylpiperidinyloxy)ethyl ( $\text{NH}_2\text{-PhEt-TEMPO}$ )

Eine Lösung aus 2,00 g (6,33 mmol)  $\text{N}_3\text{-PhEt-TEMPO}$  in 34 mL trockenem THF wird auf  $0^\circ\text{C}$  abgekühlt und unter  $\text{N}_2$ -Atmosphäre gerührt. Zu dieser Reaktionslösung wird langsam 6,3 mL (6,33 mmol)  $\text{LiAlH}_4$  (1 mol in THF) zugegeben und für weitere 1,5 h bei  $0^\circ\text{C}$  gerührt. Anschließend wird die gelblich gefärbte Reaktionsmischung vorsichtig mit 2 mL dest.  $\text{H}_2\text{O}$  versetzt und für 30 min weitergerührt. Danach wird die Lösung vom  $\text{Al}_2\text{O}_3$  abfiltriert und der Rückstand nochmals mit THF aufgeschlämmt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer vollständig entfernt.

**Ausbeute:** 1,73 g (5,97 mmol), 94 % (weiße Kristalle)



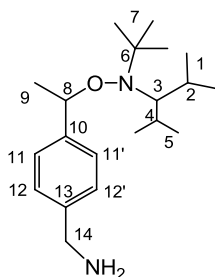
**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  in ppm): 0.60, 0.95, 1.09, 1.22 (jeweils br. s, 12 H, H-3,4,3',4'), 1.30-1.56 (m, 6 H, H-1,2',2), 1.40 (d,  $J = 7$  Hz, 3 H, H-7), 3.78 (s, 2H, H-12), 4.68 (q,  $J = 7$  Hz, 1 H, H-6), 7.16 (q,  $J = 8$  Hz, 4 H, H-9,10,9',10')

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  in ppm): 17.21 (C-1), 20.33 (C-7), 23.58 (C-4,4'), 34.17 (C-3), 34.40 (C-3'), 40.34 (C-2,2'), 46.31 (C-12), 59.64 (C-5,5'), 82.81 (C-6), 126.69 (C-9,9'), 126.74 (C-10,10'), 141.77 (C-8), 144.40 (C-11)

### Synthese von 1-(4-Aminomethylphenyl)-1-(2,2,5-Trimethyl-4-(isopropyl)-3-azahexan-3-oxyl) ( $\text{NH}_2\text{-PhEt-BIPNO}$ )

Eine Lösung aus 10,28 g (29,6 mmol)  $\text{N}_3\text{-PhEt-BIPNO}$  in 170 mL trockenem THF wird auf  $0^\circ\text{C}$  abgekühlt und unter  $\text{N}_2$ -Atmosphäre gerührt. Zu dieser Reaktionslösung wird langsam 30 ml  $\text{LiAlH}_4$  (1 M Lösung in THF) zugegeben und für weitere 1,5 h bei  $0^\circ\text{C}$  gerührt. Anschließend wird die gelblich gefärbte Reaktionsmischung vorsichtig mit 10 mL dest.  $\text{H}_2\text{O}$  versetzt und für 30 min weitergerührt. Danach wird die Lösung vom  $\text{Al}_2\text{O}_3$  abfiltriert und der Rückstand nochmals mit THF aufgeschlämmt. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer vollständig entfernt.

**Ausbeute:** 5,95 g (18,6 mmol), 63 % (weisse Kristalle)



**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  in ppm): 0.80 – 1.65 (m, 21 H, H-1,5,7) 1.43 (s, 1 H, H-3), 1.48 (m, 3 H, H-9), 2.37 (m, 2 H, H-2,4), 2.50 (m, 1 H, H-3), 3.78 (s, 2 H, H-14), 4.78 (q,  $J = 7 \text{ Hz}$ , 1 H, H-8), 7.29-7.35 (m, 4 H, H-11,11',12,12')

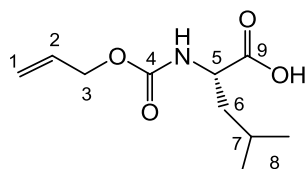
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  in ppm): 18.21 (C-9), 22.40 (C-1), 23.17 (C-1), 24.53 (C-7), 27.20 (C-7), 27.31 (C-7), 27.82 (C-5), 28.14 (C-5), 29.60 (C-4), 30.67 (C-2), 46.27 (C-14), 69.84 (C-3), 79.68 (C-6), 81.15 (C-8), 126.58 (C-11'), 127.03 (C-11), 141.71 (C-12'), 142.12 (C-12), 142.78 (C-10), 143.12 (C-13)

### 9.3.3 Synthese des Nickel-Initiators

#### Synthese von $\text{N}_\alpha$ -Allyloxycarbonyl-L-Leucin

In einem 400 mL Becherglas werden 25,0 g (0,191 mol) L-Leucin in 125 mL dest. Wasser und 50 mL wässrige 4 M (0,201 mol, 1,05 eq.) NaOH-Lsg. unter Rühren aufgelöst. Zu der auf 0 °C abgekühlten Lösung werden 24,3 mL (0,191 mol, 1,0 eq.) Chlorameisensäureallylester und 50 mL wässrige 4 M (0,201 mol, 1,05 eq.) NaOH-Lsg. abwechselnd in kleinen Mengen hinzugefügt. Dabei ist darauf zu achten, dass der pH-Wert basisch bleibt (ca. pH 9). Nach erfolgter Zugabe wird für 1 h bei 0 °C weitergerührt. Dann wird die Lösung mit konz. HCl bis zu einem pH-Wert von 2-3 angesäuert, wobei ein weißer Niederschlag ausfällt. Es wird dreimal mit jeweils 125 mL Diethylether (DEE) extrahiert, die vereinigten organischen Phasen über Natriumsulfat getrocknet und der DEE am Rotationsverdampfer entfernt. Das so erhaltene Rohprodukt wird mittels Kugelrohrdestillation bei 0,04-0,05 mbar und einer Kopftemperatur von 180-190 °C gereinigt. Als Produkt wird eine zähe, farblose Flüssigkeit erhalten.

**Ausbeute:** 25,5 g (0,119 mol), 62 %

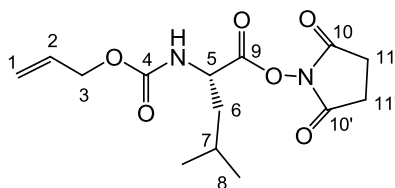


**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  in ppm): 0.95 (d,  $J = 6.2 \text{ Hz}$ , 6 H, H-8), 1.52 – 1.82 (m, 3H, H-7, H-6), 4.39 (m, 1 H, H-5), 4.58 (d, 2H,  $J = 5.4 \text{ Hz}$ , H-3), 5.21 (d,  $J = 10.4 \text{ Hz}$ , 1 H, H-1), 5.28 (m, 1 H, H-1), 5.90 (m, 1 H, H-2), 6.15 (br. s, 1 H, NH), 9.48 (br. s, 1 H, COOH)

**Synthese von N $\alpha$ -Allyloxycarbonyl-L-Leucin-N-hydroxysuccinimidester**

Es werden 25,6 g (0,119 mol) N $\alpha$ -Allyloxycarbonyl-L-leucin in 40 mL trockenem THF gelöst und mit 13,69 g (0,119 mol) N-Hydroxysuccinimid versetzt. Nach Abkühlen der Reaktionslösung auf 0 °C wird eine Lösung aus 24,51 g (0,119 mol) Dicyclohexylcarbodiimid in 25 mL trockenem THF gegeben. Die Lösung wird weiter im auftauenden Eisbad gerührt und über Nacht bei 7 °C gelagert. Der weiße voluminöse Niederschlag wird abfiltriert und mit THF gewaschen. Das Filtrat wird am Rotationsverdampfer eingengt, die erhaltene ölige Flüssigkeit mit Ethylacetat aufgenommen, mit wässriger NaHCO<sub>3</sub>-Lösung, dest. Wasser und gesättigter NaCl-Lösung gewaschen und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und das Produkt im Hochvakuum getrocknet. Nach einigen Tagen kristallisiert das Produkt als farbloser Feststoff aus.

**Ausbeute:** 33,8 g (0,108 mol), 91 %



**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  in ppm): 0.92 (d,  $J$  = 6,4 Hz, 6 H, H-8), 1.60-1.79 (m, 3 H, H-6, H-7), 2.77 (s, 4 H, H-11,11'), 4.52 (d,  $J$  = 5,6 Hz, 2 H, H-3), 4.67 (m, 1 H, H-5), 5.18 (dd,  $J$  = 1,3 Hz,  $J$  = 10,4 Hz, 1 H, H-1), 5.28 (dd,  $J$  = 1,5 Hz,  $J$  = 17,2 Hz, 1 H, H-1), 5.86 (m, 1 H, H-2)

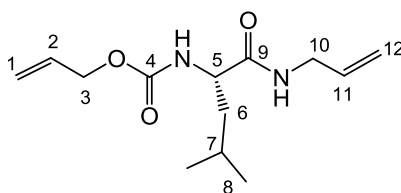
**<sup>13</sup>C-NMR** (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  in ppm): 21.4 (C-8), 22.5 (C-9), 24,4 (C-7), 25.4 (C-11, 11'), 41.1 (C-6), 50.7 (C-5), 65.8 (C-3), 117.7 (C-1), 132.3 (C-2), 155.4 (C-4), 168.6 (C-10), 168.8 (C-10'), 171.0 (C-9)

### 9.3.3.1 Umsetzung zum bifunktionellen Initiator

#### Darstellung von $N_\alpha$ -Allyloxycarbonyl-L-leucin-allylamin ( $N_\alpha$ -Alloc-L-leucin-allylamin)

Zu einer Lösung aus 2,5 g (8 mmol)  $N_\alpha$ -Alloc-L-leucin-N-hydroxysuccinimidester gelöst in 10 mL trockenem THF wird 0,9 mL (12 mmol) Allylamin gegeben. Die Reaktion rührt für 1,5 h bei Raumtemperatur unter  $N_2$ -Atmosphäre, wobei sich sofort ein weißer Niederschlag bildet. Der Niederschlag wird abfiltriert und mit THF und Ethylacetat gewaschen. Das Filtrat wird noch zweimal mit je 30 mL HCl-Lösung (2M), zweimal mit je 30 mL ges.  $NaHCO_3$ -Lösung und zweimal mit je 30 mL ges. NaCl-Lösung gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden über  $Na_2SO_4$  getrocknet und das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit einer Mischung aus PE/EE mit 1:1 gereinigt.

**Ausbeute:** 1,75 g (6,97 mmol), 86 % (kristallines Produkt)



**$^1H$ -NMR** (400 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$  in ppm): 0.94 (dd,  $J = 2,6$  Hz,  $J = 3,8$  Hz, 6 H, H-8), 1.56 (m, 1 H, H-7), 1.69 (m, 2 H, H-6), 3.89 (m, 2 H, H-10), 4.19 (m, 1 H, H-5), 4.57 (d,  $J = 5,6$  Hz, 2 H, H-3), 5.11-5.33 (m, 4 H, H-1,12), 5.76-5.86 (m, 2 H, H-2,11), 6.34 (br. s, 1 H, NH)

**$^{13}C$ -NMR** (100 MHz,  $CDCl_3$ ,  $\delta$  in ppm): 22.91 (C-7), 24.72 (C-8), 41.46 (C-6), 41.83 (C-10), 53.73 (C-5), 65.95 (C-3), 116.47 (C-1), 117.92 (C-12), 132.48 (C-2), 133.82 (C-11), 156.16 (C-4), 172.03 (C-9)

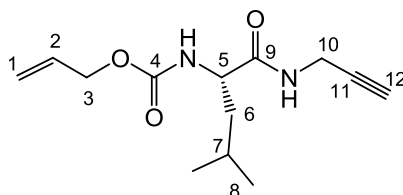
**EA** (exp. (theor.) in %): N: 9.60 (9.78); C: 62.83 (62.90); H: 10.60 (10.56)

#### Darstellung von $N_\alpha$ -Allyloxycarbonyl-L-leucin-aminopropargyl ( $N_\alpha$ -Alloc-L-leucin-aminopropargyl)

Zu einer Lösung aus 2,42 g (7,76 mmol)  $N_\alpha$ -Alloc-L-leucin-N-hydroxysuccinimidester gelöst in 14 mL trockenem THF wird 1,3 mL (12 mmol) Propargylamin gegeben. Die Reaktion rührt für 1,5 h bei Raumtemperatur unter  $N_2$ -Atmosphäre, wobei sich sofort ein weißer Niederschlag bildet. Der Niederschlag wird abfiltriert und mehrmals mit THF und Ethylacetat

gewaschen. Das Filtrat wird noch zweimal mit je 30 mL HCl-Lösung (2M), zweimal mit je 30 mL ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und zweimal mit je 30 mL ges. NaCl-Lösung gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt.

**Ausbeute:** 1,45 g (5,75 mmol), 74 % (weißes, kristallines Produkt)



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  in ppm): 0.87 (dd,  $J = 2,6$  Hz,  $J = 3,8$  Hz, 6 H, H-8), 1.47-1.62 (m, 3 H, H-6,7), 3.97 (m, 2 H, H-10), 4.19 (m, 1 H, H-5), 4.47 (d,  $J = 5,6$  Hz, 1 H, H-3), 5.11-5.26 (m, 2 H, H-1), 5.42 (m, 1 H, H-12), 5.76-5.86 (m, 1 H, H-2), 6.79 (br. s, 1 H, NH)

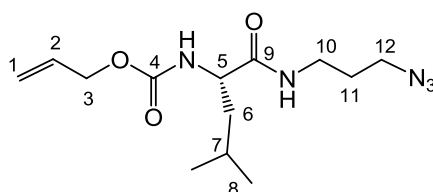
**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  in ppm): 22.91 (C-7), 24.72 (C-8), 30.32 (C-10), 41.46 (C-6), 54.74 (C-5), 65.94 (C-3), 74.25 (C-12), 81.25 (C-11), 116.47 (C-1), 132.48 (C-2), 156.16 (C-4), 172.03 (C-9)

**EA** (exp. (theor.) in %): N: 9.90 (9.85); C: 63.22 (63.35); H: 9.60 (9.92)

### Darstellung von N $\alpha$ -Allyloxycarbonyl-L-leucin-1-amino-3-azidopropan (N $\alpha$ -Alloc-L-leucin-1-amino-3-Azidopropan)

Zu einer Lösung aus 2,46 g (7,9 mmol) N $\alpha$ -Alloc-L-leucin-N-hydroxysuccinimidester gelöst in 10 mL trockenem THF wird 0,79 g (7,9 mmol) 1-Azido-3-aminopropan gegeben. Die Reaktion rührt für 24 h bei Raumtemperatur unter N<sub>2</sub>-Atmosphäre. Das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit einem Laufmittel aus PE/EE im Verhältnis von 1:1 gereinigt.

**Ausbeute:** 1,61 mg (5,05 mmol), 64 % (gelbes, viskoses Produkt)



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  in ppm): 0.87 (dd,  $J = 2,6$  Hz,  $J = 6,1$  Hz, 6 H, H-8), 1.47 (m, 1 H, H-12), 1.61 (m (3 H, H-6,7), 1.72 (qi,  $J = 6,6$  Hz, 2 H, H-11), 3.29 (m, 2 H, H-10), 4.19 (m, 1 H, H-5), 4.50 (d,  $J = 5,6$  Hz, 1 H, H-3), 5.14-5.26 (m, 2 H, H-1), 5.85 (m, 1 H, H-2), 6.26 (br. s, 1 H, NH)

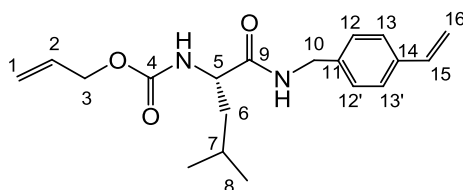
**<sup>13</sup>C-NMR** (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  in ppm): 22.91 (C-7), 24.72 (C-8), 30.25 (C-11), 37.55 (C-10), 41.46 (C-6), 48.12 (C-12), 56.74 (C-5), 65.94 (C-3), 116.58 (C-1), 132.48 (C-2), 156.16 (C-4), 172.21 (C-9)

**EA** (exp. (theor.) in %): N: 23,10 (22,35); C: 52,82 (49,83); H: 8,07 (7,40)

### Darstellung von N<sub>α</sub>-Allyloxycarbonyl-L-leucin-(1-aminomethyl-4-vinylphenyl) (N<sub>α</sub>-Alloc-L-leucin-aminomethyl-4-vinylphenyl)

Zu einer Lösung aus 0,94 g (3,01 mmol) N<sub>α</sub>-Alloc-L-leucin-N-hydroxysuccinimidester gelöst in 5 mL trockenem CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> wird 0,4 g (3,0 mmol) p-Vinylbenzylamin (VBA) gegeben. Die Reaktion rührt für 24 h bei Raumtemperatur unter N<sub>2</sub>-Atmosphäre, wobei sofort ein Niederschlag entsteht. Der Niederschlag wird abfiltriert und mehrmals mit CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> gewaschen. Das Filtrat wird noch zweimal mit je 30 mL HCl-Lösung (2M), zweimal mit je 30 mL ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung und zweimal mit je 30 mL ges. NaCl-Lösung gewaschen. Die vereinigten organischen Phasen werden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel wird am Rotationsverdampfer entfernt. Das Rohprodukt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit einem Laufmittel aus PE/EE im Verhältnis von 1:1 gereinigt.

**Ausbeute:** 730 mg (2,21 mmol), 74 % (weißes, kristallines Produkt)



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  in ppm): 0.93 (dd,  $J = 2,6$  Hz,  $J = 3,8$  Hz, 6 H, H-8), 1.54-1.70 (m, 3 H, H-6,7), 4.21 (m, 1 H, H-5), 4.39-4.51 (m, 4 H, H-3,10), 5.17-5.33 (m, 3 H, H-1,16), 5.69 – 5.75 (m, 1 H, H-16), 5.83-5.93 (m, 1 H, H-2), 6.61 (br. s, 1 H, NH), 6.67 (m, 1 H, H-15), 7.18 – 7.37 (q,  $J = 8.2$  Hz, 4 H, H-11,11',12,12')



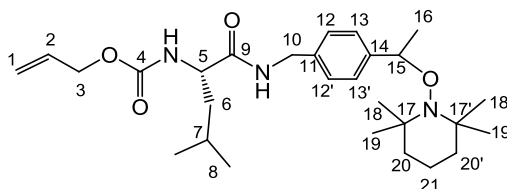
**$^{13}\text{C}$ -NMR** (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  in ppm): 22.92 (C-7), 24.69 (C-8), 41.41 (C-6), 43.21 (C-10), 53.55 (C-5), 65.91 (C-3), 113.95 (C-16), 117.88 (C-1), 126.48 (C-12,12'), 127.83 (C-13,13'), 132.44 (C-2), 136.30 (C-14), 136.87 (C-15), 137.56 (C-11), 156.16 (C-4), 172.20 (C-9)

**EA** (exp. (theor.) in %): N: 8.76 (8.48); C: 68.67 (69.06); H: 8.12 (7.93)

**Darstellung von  $N_\alpha$ -Allyloxycarbonyl-L-leucin-(1-*p*-aminomethyl-phenylethyl)-1-(2,2,6,6-Tetramethylpiperidinyloxy) ( $N_\alpha$ -Alloc- L -leucin-aminomethyl-PhEt-TEMPO)**

Zu einer Lösung aus 0,99 g (3,17 mmol)  $N_\alpha$ -Alloc-L-leucin-N-hydroxysuccinimidester in 3 mL trockenem THF wurden 0,9 g (3,10 mmol)  $\text{NH}_2$ -PhEt-TEMPO gelöst in 3 mL trockenem THF gegeben. Die Reaktion rührte für 20 h bei Raumtemperatur unter  $\text{N}_2$ -Atmosphäre. Anschließend wurde das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit einer Mischung aus PE/EE 1:1 gereinigt.

**Ausbeute:** 986 mg (2,25 mmol), 65 % (farblose, stark viskose Substanz)



**$^1\text{H}$ -NMR** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  in ppm): 0.60, 0.95, 1.09, 1.21 (jeweils br. s, 12 H (H-18,19,18',19')), 0.87 (dd,  $J = 2$  Hz,  $J = 4$  Hz, 6 H, H-8), 1.30-1.56 (m, 6 H, H-20, 20',21), 1.37 (d,  $J = 7$  Hz, 3 H, H-16), 1.58-1.70 (m, 3 H, H-6,7), 4.12 (m, 1 H, H-5), 4.29 (m, 2 H, H-10), 4.46 (d,  $J = 6$  Hz, 2 H, H-3), 4.67 (q,  $J = 7$  Hz, 1 H, H-15), 5.11-5.25 (m, 2 H, H-1), 5.76-5.86 (m, 1 H, H-2), 6.34 (br. s, 1 H, NH), 7.12 (q,  $J = 8$  Hz, 4 H (H-12,12',13,13'))

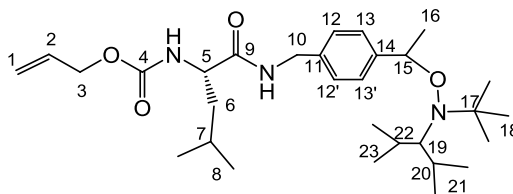
**$^{13}\text{C}$ -NMR** (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  in ppm): 17.19 (C-16), 20.34 (C-21), 21.98 (C-7), 22.93 (C-19), 23.57 (C-19'), 24.70 (C-8), 34.23 (C-18), 34.48 (C-18'), 40.32 (C-20,20'), 41.49 (C-6), 43.32 (C-10), 53.57 (C-5), 59.66 (C-17,17'), 65.90 (C-3), 82.81 (C-15), 117.89 (C-1), 126.87 (C-12,12'), 127.33 (C-13,13'), 132.48 (C-2), 136.20 (C-14), 145.21 (C-11), 156.11 (C-4), 172.03 (C-9)

**EA** (exp. (theor.) in %): N: 8.90 (8.62); C: 69.73 (68.96); H: 9.60 (9.30)

**Darstellung von  $N_\alpha$ -Allyloxycarbonyl-L-leucin-(1-*p*-aminomethyl-phenylethyl)-1-(2,2,5-Trimethyl-4-(isopropyl)-3-azahexan-3-oxyl) ( $N_\alpha$ -Alloc-L-leucin-aminomethyl-PhEt-BIPNO)**

Zu einer Lösung aus 5,8 g (18,6 mmol)  $N_\alpha$ -Alloc-L-leucin-N-hydroxysuccinimidester gelöst in 10 mL trockenem THF wird 5,95 g (18,6 mmol)  $\text{NH}_2$ -PhEt-BIPNO gelöst in 10 mL trockenem THF gegeben. Die Reaktion rührt für 20 h bei Raumtemperatur unter  $\text{N}_2$ -Atmosphäre. Anschließend wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit einer Mischung aus PE/EE 1:1 gereinigt.

**Ausbeute:** 6,06 g (11,7 mol), 63 % (farblose, stark viskose Substanz)



**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  in ppm): 0.82 (t,  $J = 7,2$  Hz, 3 H, H-16), 0.92-0.99 (m, 15 H, H-18,8), 1.08 (m, 3 H, H-23), 1.16 (m, 6 H, H-21), 1.47 (m, 3 H, H-23), 1.67-1.84 (m, 5 H, H-19, H-6 H-7), 2.25-2.55 (m, 2 H, H-20,22), 4.12 (m, 1 H, H-5), 4.40 (m, 2 H, H-10), 4.54 (d,  $J = 4.3$  Hz, 2 H, H-3), 4.67 (q,  $J = 5.47$  Hz, 1 H, H-15), 5.11-5.25 (m, 2 H, H-1), 5.76-5.86 (m, 1 H, H-2), 6.40 (br. s, 1 H, NH), 7.12 (m, 4 H, H-12,12',13,13')

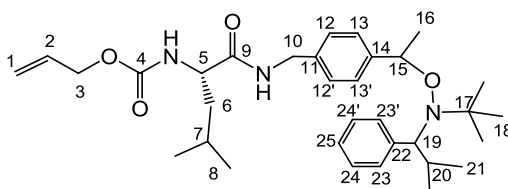
**$^{13}\text{C-NMR}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  in ppm): 17.73 (C-16), 22.79 (C-21), 22.93 (C-23), 24.54 (C-7), 27.35 (C-18), 27.83 (C-20), 28.16 (C-22), 41.47 (C-6), 43.34 (C-10), 59.79 (C-5), 65.92 (C-3), 69.87 (C-17), 77.21 (C-19), 81.10 (C-15), 117.90 (C-1), 126.74 (C-13,13'), 127.16 (C-12,12'), 132.46 (C-2), 136.55 (C-14), 144.02 (C-11), 156.12 (C-4), 171.14 (C-9)

**EA** (exp. (theor.) in %): N: 7.59 (8.12); C: 69.22 (69.59); H: 10.11 (9.93)

**Darstellung von  $N_\alpha$ -Allyloxycarbonyl-L-leucin-(1-*p*-aminomethyl-phenylethyl)-1-(2,2,5-Trimethyl-4-phenyl-3-azahexan-3-oxyl) ( $N_\alpha$ -Alloc-L-leucin-aminomethyl-PhEt-TIPNO)**

Zu einer Lösung aus 0,705 g (2,26 mmol)  $N_\alpha$ -Alloc-L-leucin-N-hydroxysuccinimidester gelöst in 6 mL trockenem THF wird 0,8 g (2,26 mmol)  $\text{NH}_2$ -PhEt-BIPNO gelöst in 5 mL trockenem THF gegeben. Die Reaktion rührt für 20 h bei Raumtemperatur unter  $\text{N}_2$ -Atmosphäre. Anschließend wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit einer Mischung aus PE/EE (1:1) gereinigt.

**Ausbeute:** 1g (1,82 mmol), 80 % (farbloses, viskoses Produkt)



**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  in ppm, beide Diastereomere): 0.23 (d, Diastereomer,  $J = 6,6$  Hz, 3 H, H-20), 0.53 (d, Diastereomer,  $J = 6,6$  Hz, 3 H, H-20), 0.77 (s, Diastereomer, 9 H, H-18), 0.95 (d, Diastereomer,  $J = 5,91$  Hz, 15 H, H-20,8), 1.05 (s, -Diastereomer, 9 H, H-18), 1.30 (d, Diastereomer,  $J = 6,4$  Hz, H-20), 1.52 (d, Diastereomer,  $J = 6,6$  Hz, 3 H, H-16), 1.61 (d, Diastereomer,  $J = 6,6$  Hz, H-16), 1.65 (m, beide Diastereomere, 3 H, H-6,7), 2.39 (m, beide Diastereomere, H-20), 3.28 (d, Diastereomer,  $J = 10,7$  Hz, 1 H, H-19), 3.40 (d, Diastereomer,  $J = 10,6$  Hz, H-19), 4.18 (m, beide Diastereomere, 2 H, H-5), 4.43 (m, beide Diastereomere, 2 H, H-10), 4.55 (d,  $J = 5,6$  Hz, H-3), 4.91 (m, beide Diastereomere, 1 H, H-8), 5.11-5.25 (m, beide Diastereomere, 4 H, H-1), 5.76-5.86 (m, beide Diastereomere, 1 H, H-2), 6.40 (br. s, 1 H, NH), 7.15-7.42 (m, beide Diastereomere, 18 H, H-5 und H-11,11',12,12')

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  in ppm, beide Diastereomere): 21.12 (C-21), 21.93 (C-16), 22.93 (C-8), 23.30 (C-7), 24.72 (C-20), 28.39 (C-18), 41.46 (C-6), 43.34 (C-10), 53.57 (C-5), 65.95 (C-3) 72.14 (C-19,17), 82.19 (C-14), 117.93 (C-1), 126.18 (C-25), 126.49 (C-13,13'), 127.21 (C-24,24'), 127.35 (C-13,13'), 127.39 (C-23,23'), 130.86 (C-2), 136.06 (C-11), 136.78 (C-14), 142.19 (C-22), 156.14 (C-4), 172.02 (C-9)

**EA** (exp. (theor.) in %): N: 7,46 (7,62); C: 71,27 (71,83); H: 9,03 (8,95)

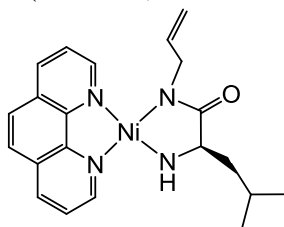
### 9.3.3.2 Darstellung des Nickel-Komplexes als bifunktionaler Initiator

#### Allgemeine Synthesevorschrift für die Darstellung des Nickel-Initiators:

#### Beispiel: Darstellung von (phen)Ni(amido-amidat-L-leucin-aminomethyl-phenylethyl-allylamin), Ni(allyl)

Unter Feuchtigkeits- und Sauerstoffausschluss werden 1,20 g (4,36 mmol) Ni(COD)<sub>2</sub> in 20 mL abs. DMF und 787 mg (4,35 mmol, 1eq) 1,10-Phenanthrolin (phen) in 8 mL abs. DMF gelöst. Die phen-Lösung wird zu der Ni(COD)<sub>2</sub>-Lösung gegeben, woraufhin sich die Reaktion sofort dunkel färbt. Nach 2 h Rührzeit bei Raumtemperatur werden 1,10 mg (4,36 mmol) N<sub>α</sub>-Alloc-L-leucin-aminomethyl-allylamin gelöst in 9 mL abs. DMF zu der (phen)Ni(COD)-Lösung zugegeben. Die Reaktionslösung rührt für 5 h bei Raumtemperatur unter Stickstoff und färbt sich grün. Anschließend wird die Reaktion auf 80 °C erhitzt und für weitere 20 h gerührt. Nach Abkühlen wird zu der dunkelviolett gefärbten Reaktionsmischung 150 mL abs. Diethylether als Fällungsmittel gegeben. Über eine Umkehrfritte wird der Niederschlag unter Feuchtigkeits- und Sauerstoffausschluss abfiltriert mit abs. THF (2x 10 mL) und abs. Diethylether (20 mL) gewaschen, unter Hochvakuum getrocknet und unter Stickstoff bei 7 °C gelagert.

**Ausbeute:** 1,59 g (3,91 mmol), 90 % (violett, feines Pulver)



**FT-IR** (KBr-Pressling, in cm<sup>-1</sup>): 3340 (NH-Valenz), 3053 (Aryl-H-Valenz), 2957 (aliphatische CH-Valenz), 1660 (C=O-Valenz, Amid I), 1572 (C=O-Valenz, Amid II), 1426 (CH<sub>2</sub>, CH-Deformation), 850 (*out of plane* Schwingung, substituierter Aromat), 778 (*out of plane* Schwingung, substituierter Aromat)

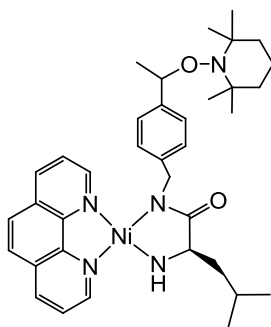
**Ni(azid):** zusätzliche Bande bei 2100 cm<sup>-1</sup> (Azid-Valenz)

Die Ergebnisse der Elementaranalyse sind in Tabelle 9.4 zusammengefasst.

**Allgemeine Synthesevorschrift für die Darstellung des Nickel-Initiators mit 1,10-Phenantrolin als Ligand und Nitroxid-gruppen für die NMP:****Beispiel: Darstellung des (phen)Ni(amido-amidat-L-leucin-aminomethyl-phenylethyl-TEMPO), Ni(TEMPO)**

Unter Feuchtigkeitsausschluss und unter Sauerstoffausschluss werden 335 mg (1,216 mmol) Ni(COD)<sub>2</sub> in 20 mL abs. DMF gelöst und 221 mg (1,226 mmol) 1,10-Phenantrolin in 8 mL abs. DMF gelöst. Die phen-Lösung wird zu der Ni(COD)<sub>2</sub>-Lösung gegeben, woraufhin sich die Lösung dunkelgrün färbt. Anschließend wird die Reaktion bei Raumtemperatur für 2 h gerührt. Zu der (phen)Ni(COD)-Lösung werden 538 mg (1,188 mmol) N<sub>α</sub>-Alloc-L-leucin-aminomethyl-PhEt-TEMPO gelöst in 7 mL abs. DMF gegeben. Die Reaktionslösung rührt für weitere 20 h bei Raumtemperatur unter Stickstoff, wobei sich die Lösung tiefgrün färbt. Die Reaktionslösung wird in 150 mL abs. Diethylether gefällt. Über eine Umkehrfritte wird der Niederschlag unter Feuchtigkeits- und Sauerstoffausschluss abfiltriert mit abs. THF (2x 10 mL) und abs. Diethylether (20 mL) gewaschen, unter Hochvakuum getrocknet und unter Stickstoff bei 7 °C gelagert.

**Ausbeute:** 583 mg, 70 % (dunkelgrünes Pulver)



**FT-IR** (KBr-Pressling, in cm<sup>-1</sup>): 3420 (NH-Valenzschwingung), 3309 (Aryl-H-Valenz), 2926 (aliphatische CH-Valenz), 1663 (C=O-Valenz, Amid I), 1573 (C=O-Valenz, Amid II), 1460 (CH<sub>2</sub>, CH-Deformation), 775 (*out of plane* Schwingung, substituierter Aromat)

Die Ausbeuten und Ergebnisse der Elementaranalyse der Nickel-Initiatoren sind in der Tabelle 9.4 zusammengefasst.

Tabelle 9.4: Ausbeuten und Ergebnisse der Elementaranalyse der Nickel-Initiatoren mit phen als Ligand.

Nickel- Initiator	Ausbeute [%]	N <i>exp. (theo.)</i>	C <i>exp. (theo.)</i>	H <i>exp. (theo.)</i>
Ni(allyl)	90	10,19 (13,76)	54,39 (61,85)	5,74 (5,94)
	(Farbe: violett)	-26%	-12 %	-3%
Ni(propargyl)	55	11,12 (13,83)	55,96 (62,93)	6,07 (5,47)
	(Farbe: violett)	-19%	-10%	+11%
Ni(azid)	75	13,61 (21,78)	52,62 (56,03)	6,10 (5,60)
	(Farbe: dunkelgrün)	-37%	-6%	+9%
Ni(VBA)	30	10,17 (11,57)	59,25 (66,97)	5,55 (6,04)
	(Farbe: violett)	-12%	-12%	-8%
Ni(TEMPO)*	70	9,22 (10,93)	57,11 (67,51)	6,42 (7,40)
	(Farbe: dunkelgrün)	-16%	-15%	-13%
Ni(TIPNO)-I	34	8,53 (9,94)	51,90 (69,89)	5,43 (7,30)
	(Farbe: dunkelgrün)	-14 %	-26 %	-25 %
Ni(BIPNO)-I*	31	9,30 (10,44)	57,10 (68,06)	6,50 (7,97)
	(Farbe: dunkelgrün)	-11%	-16%	-18%

### Allgemeine Synthesevorschrift für die Darstellung des Nickel-Initiators mit 2,2'-Bipyridyl (bpy) als Ligand:

#### Beispiel: Darstellung von (bpy)Ni(amido-amidat-L-leucin-aminomethyl-phenylethyl-TIPNO), Ni(TIPNO)-II

Unter Feuchtigkeits- und Sauerstoffausschluss werden 331 mg (1,22 mmol) Ni(COD)<sub>2</sub> in 8 mL abs. DMF und 190 mg (1,22 mmol, 1eq) 2,2'-Bipyridyl (bpy) in 7 mL abs. DMF gelöst. Die bpy-Lösung wird zu der Ni(COD)<sub>2</sub>-Lösung gegeben, woraufhin sich die Reaktion sofort dunkelviolet färbt. Nach 2 h Rührzeit bei Raumtemperatur werden 670 mg (1,22 mmol, 1eq.) N<sub>α</sub>-Alloc-L-leucin-aminomethyl-PhEt-TIPNO gelöst in 8 mL abs. DMF zu der (bpy)Ni(COD)-Lösung zugegeben, was zu einem Farbumschlag von violett zu braun-grün führt. Die Reaktionslösung wird für 24 h bei Raumtemperatur unter Stickstoff gerührt. Zu der grünegefärbten Reaktionslösung werden 150 mL abs. Diethylether als Fällungsmittel gegeben. Über eine Umkehrfritte wird der Niederschlag unter Feuchtigkeits- und Sauerstoffausschluss abfiltriert mit abs. THF (2x 10 mL) und abs. Diethylether (20 mL) gewaschen, unter Hochvakuum getrocknet und unter Stickstoff bei 7 °C gelagert.

**Ausbeute:** 240 mg, 29 % (dunkelbraunes, feines Pulver)

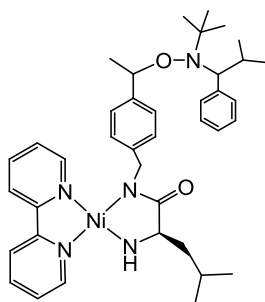


Tabelle 9.5: Ausbeuten und Ergebnisse der Elementaranalyse der Nickel-Initiatoren mit bpy als Ligand.

Nickel-Initiator	Ausbeute [%]	N <i>exp. (theo.)</i>	C <i>exp. (theo.)</i>	H <i>exp. (theo.)</i>
Ni(TIPNO)-II	29	8,05 (10,29)	42,59 (68,83)	5,03 (7,55)
	(Farbe: grün)	-22 %	-38 %	-33 %
Ni(BIPNO)-II	16	8,46 (10,83)	63,09 (66,88)	8,98 (8,26)
	(Farbe: grün)	-22%	-6%	+9%

Die Charakterisierung des Ni-Komplexes mit  $^1\text{H}$ -NMR und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektroskopie kann aufgrund des Paramagnetismus des Nickels nicht erfolgen.

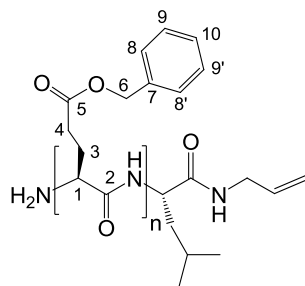
### 9.3.4 Synthese von PBLG

#### 9.3.4.1 Nickel initiierte NCA Polymerisation

Exemplarisch wird die Synthese von PBLG-(Ni)1 beschrieben. Die Ergebnisse der Nickel-initiierten NCA Polymerisationen zur Darstellung von PBLG sind in der Tabelle 9.6 zusammengefasst.

Unter Sauerstoff- und Feuchtigkeitsausschluss werden 30,5 mg (0,075 mmol) Ni(allyl) und 1,40 g (5,32 mmol)  $\gamma$ -Benzyl-L-glutamat-N-Carboxyanhydrid ( $\gamma$ -BLG-NCA) jeweils in 6 mL abs. DMF gelöst. Die Monomerlösung wird anschließend unter Stickstoff zum gelösten Nickel-Initiator gegeben. Die Reaktionslösung rührt für 16 h bei Raumtemperatur. Das Polymer wird anschließend in eiskaltem Methanol (4 mM HCl) ausgefällt, isoliert, getrocknet und zweimal in eisgekühltem Methanol aus THF umgefällt.

**Ausbeute:** 1,04 g (4,75 mmol), 89 %



**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3 + 15 \text{ wt\% TFA}$ ,  $\delta$  in ppm): 1.91 (m, 1 H, H-3), 2.08 (m, 1 H, H-3), 2.44 (t,  $J = 6,8 \text{ Hz}$ , 2 H, H-4), 4.08 (m, 1 H, H-1), 5.08 (m, 2 H, H-6), 7.28 (m, 5 H, H-8,8',9,9',10), 7.80 (br. s, 1 H, NH)

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3 + 15 \text{ wt\% TFA}$ ,  $\delta$  in ppm): 26.97 (C-3), 30.04 (C-4), 53.24 (C-1), 68.28 (C-6), 128.32 (C-9, 9'), 128.73 (C-8,8'), 134.44 (C-7), 173.1 (C-8), 175.4 (C-2)

**FT-IR** (KBr-Pressling, in  $\text{cm}^{-1}$ ): 3290 (NH-Valenz), 3035 (Aryl-H-Valenz), 2957 (aliphatische CH-Valenz), 1734 (C=O, Ester), 1652 (C=O-Valenz, Amid I), 1549 (C=O-Valenz, 1454 ( $\text{CH}_2$ , CH-Deformation), 1165 (C-C Dehnung), 778 (*out of plane* Schwingung, monosubstituierter Aromat)

Tabelle 9.6: Ausbeuten und Ergebnisse der Nickel-initiierten NCA Polymerisation bei RT für 16 h.

Polymer	Nickel- Initiator	$M_{n(\text{theo})}$ [g/mol]	$M_{n(\text{GPC})}$ [g/mol]	PD	Umsatz X [%]
PBLG-(Ni)1	Ni(allyl)	14000	15000	1,15	89
PBLG-(Ni)2		29000	15000	1,04	48
PBLG-(Ni)3		22500	21000	1,15	79
PBLG-(Ni)4		23000	16000	1,07	54
PBLG-(Ni)5	Ni(propargyl)	18500	25000	1,47	96
PBLG-(Ni)6		22000	23000	1,40	94
PBLG-(Ni)7		15000	25000	1,30	93
PBLG-(Ni)8		11000	18000	1,27	96
PBLG-(Ni)9		28000	37000	1,37	96
PBLG-(Ni)10	Ni(azid)	19000	24000	1,41	94
PBLG-(Ni)11		12500	29000	1,49	100
PBLG-(Ni)12		18000	28000	1,59	92
PBLG-(Ni)13		12500	21000	1,38	99
PBLG-(Ni)14	Ni(VBA)	23000	13000	1,50	94
PBLG-(Ni)15		52500	20000	1,24	86
PBLG-(Ni)16		16500	17500	1,41	98
PBLG-(Ni)17		14000	19000	1,34	94



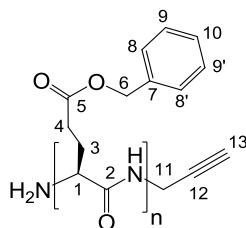
Polymer	Nickel- Initiator	M <sub>n(theo)</sub> [g/mol]	M <sub>n(GPC)</sub> [g/mol]	PD	Umsatz X [%]
PBLG-(Ni)18	Ni(TEMPO)	45000	40000	1,37	90
PBLG-(Ni)19		35000	32000	1,43	91
PBLG-(Ni)20		19000	22000	1,33	86
PBLG-(Ni)21	Ni(TIPNO)-I	96000	34000	1,40	90
PBLG-(Ni)22		27000	21000	1,42	96
PBLG-(Ni)23		41500	28000	1,49	91
PBLG-(Ni)24		19000	23000	1,48	95
PBLG-(Ni)25	Ni(TIPNO)-II	15500	22500	1,37	97
PBLG-(Ni)26		52000	27000	1,38	90
PBLG-(Ni)27		13500	16500	1,35	97
PBLG-(Ni)28	Ni(BIPNO)-I	15000	18000	1,46	97
PBLG-(Ni)29		29000	23000	1,17	89
PBLG-(Ni)30		51000	32000	1,40	96
PBLG-(Ni)31		17000	24000	1,45	96
PBLG-(Ni)32	Ni(BIPNO)-II	44000	25000	1,06	81
PBLG-(Ni)33		20000	12000	1,05	82
PBLG-(Ni)34		29000	19000	1,12	92
PBLG-(Ni)35		33000	14000	1,26	82

### 9.3.4.2 amin-initiierte NCA Polymerisation

Exemplarisch wird die Synthese von PBLG-(propargyl)-4 beschrieben. Die Ergebnisse der amin-initiierten NCA Polymerisationen sind in der Tabelle 9.7 zusammengefasst.

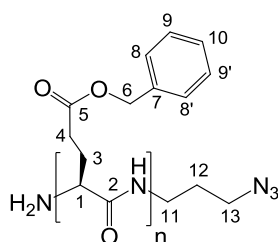
In einem 50 mL Schlenkrohr werden unter Sauerstoff- und Feuchtigkeitsausschluss 2 g (7,6 mmol)  $\gamma$ -BLG-NCA in 15 mL abs. DMF gelöst. Zur Monomerlösung wird unter Stickstoffatmosphäre mittels Spritze 10,7  $\mu$ L (0,17 mmol) Propargylamin zugesetzt. Die Reaktion rührt für 5 Tage bei 0 °C. Anschließend wird das Polymer in eiskaltem Diethylether ausgefällt, isoliert, getrocknet und einmal in eisgekühltem Diethylether aus THF umgefällt.

**Ausbeute:** 1,45 g (6,62 mmol), 87 %



**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3 + 15 \text{ wt\% TFA}$ ,  $\delta$  in ppm): 1.91 (m, 1 H, H-3), 2.10 (m, 1 H, H-3), 2.45 (t,  $J = 6,8 \text{ Hz}$ , 2 H, H-4), 3.99 (br, s, H-11, Endgruppe), 4.60 (m, 1 H, H-1), 5.08 (m, 2 H, H-6), 7.26 (m, 5 H, H-8,8',9,9',10), 7.80 (br. s, 1 H, NH)

PBLG-(azid):



**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3 + 15 \text{ wt\% TFA}$ ,  $\delta$  in ppm): 1.78 (qi,  $J = 6,7 \text{ Hz}$ , H-12, Endgruppe), 1.91 (m, 1 H, H-3), 2.10 (m, 1 H, H-3), 2.45 (t,  $J = 6,8 \text{ Hz}$ , 2 H, H-4), 3.55 (t,  $J = 6,5 \text{ Hz}$ , H-13, Endgruppe), 4.60 (m, 1 H, H-1), 5.08 (m, 2 H, H-6), 7.26 (m, 5 H, H-8,8',9,9',10), 7.80 (br. s, 1 H, NH)

Tabelle 9.6: Ausbeuten und Ergebnisse der amin-initiierten NCA Polymerisation bei  $0^\circ\text{C}$  für 5 Tage.

Polymer	$M_{n(\text{theo})}$	$M_{n(\text{GPC})}$	PD	$^1\text{H-NMR}$	Umsatz
	[g/mol]	[g/mol]		$M_n / P_n$	X [%]
PBLG-(propargyl)-1	5900	5500	1,02	5475 / 25	89
PBLG-(propargyl)-2	9200	8900	1,04	8979 / 41	86
PBLG-(propargyl)-3	5600	6400	1,07	6351 / 29	84
PBLG-(propargyl)-4	8600	7900	1,19	7446 / 34	87
PBLG-(propargyl)-5	3500	4400	1,14	n.b.	93
PBLG-(propargyl)-6	2700	3400	1,15	2847 / 13	95
PBLG-(propargyl)-7	11700	10700	1,02	n.b.	67
PBLG-(propargyl)-8	4600	5000	1,03	4599 / 21	87
PBLG-(propargyl)-9	6300	6100	1,02	6351 / 29	75
PBLG-(propargyl)-10	13000	11500	1,06	11169 / 51	62
PBLG-(propargyl)-11	3800	4200	1,17	n.b.	95
PBLG-(propargyl)-12	7700	7300	1,04	n.b.	86

Polymer	M <sub>n</sub> (theo) [g/mol]	M <sub>n</sub> (GPC) [g/mol]	PD	<sup>1</sup> H-NMR M <sub>n</sub> / P <sub>n</sub>	Umsatz X [%]
PBLG-(VBA)-1	3900	5300	1,30	n.b.	98
PBLG-(VBA)-2	6000	6500	1,28	n.b.	91
PBLG-(VBA)-3	9300	7500	1,13	n.b.	84
PBLG-(azid)-1	6400	7300	1,06	6351 / 29	96
PBLG-(azid)-2	8000	7500	1,04	4599 / 21	76
PBLG-(azid)-3	10400	7000	1,11	6351 / 29	67
PBLG-(azid)-4	5600	6200	1,05	5475 / 25	84

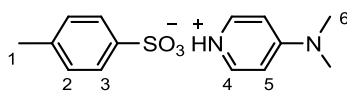
### 9.3.5 Darstellung der PBLG-Sterne

#### 9.3.5.1 Synthese der multifunktionellen Verknüpfungsreagenzien

##### Synthese von 4-(Dimethylamino)pyridinium-4-Toluolsulfonsäure-Salz (DPTS)<sup>[257]</sup>

Es werden 16,07 g (81,9 mmol) *p*-Toluolsulfonsäure-Monohydrat in 250 mL Toluol gelöst und mithilfe eines Wasserabscheiders das Wasser abgetrennt. Unter starkem Rühren wird eine äquimolare, warme Lösung von Dimethylaminopyridin (DMAP) in Toluol hinzugegeben. Die Reaktionsmischung wird auf Raumtemperatur abgekühlt und das ausgefallene Produkt abfiltriert. Das Produkt wird im Vakuum getrocknet und aus trockenem Dichlormethan umkristallisiert.

**Ausbeute:** 13,47 g (46,44 mmol), 57 %



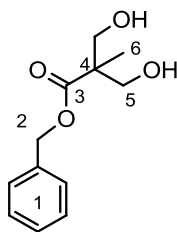
**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>, δ in ppm): 1.3 (s, 3 H, H-1), 3.2 (s, 6 H, H-6), 6.8 (m, 2 H, H-2), 7.2 (m, 2 H, H-3), 7.8 (m, 2 H, H-5), 8.2 (m, 2 H, H-4)

##### Synthese von Benzyl-2,2-bis(methylol)propionat<sup>[258]</sup>

In einem 100 mL Dreihalskolben mit Rückflusskühler werden unter Feuchtigkeitsausschluss 2,15 g (0,038 mol, 1,1 eq) KOH und 4,5 g (0,034 mol, 1 eq) Bis(hydroxymethyl)propionsäure in DMF unter Stickstoff vorgelegt. Über ein Septum wird Benzylbromid (4,8 ml, 0,039 mol, 1,1 eq) zugegeben. Die Mischung wird 15 h unter Rückfluss gerührt. Das Lösungsmittel wird

entfernt, der Rückstand in Diethylether aufgenommen und dreimal mit 20 mL Wasser extrahiert. Die organische Phase wird eingengt und das Rohprodukt säulenchromatographisch an Kieselgel mit einem Laufmittelgemisch aus PE/EE mit 1:1 gereinigt.

**Ausbeute:** 3,64 (16,3 mmol), 49 % (gelblich, hochviskoses Produkt)



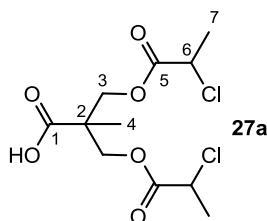
**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  in ppm): 1.1 (s, 3 H, H-6), 2.8 (br. s, 2 H, OH), 3.7 -4.0 (dd,  $J = 11,2$  Hz, 4 H, H-5), 5.2 (s, 2 H, H-2), 7.4 (m, 5 H, H-1)

### Herstellung des 2-arm Kerns mit Chlorid-Endgruppen, $\text{AB}_2$ -Einheit

#### Darstellung von Bis-(2-chlor-propionylmethyl)propionsäure<sup>[259]</sup> (27a)

In einem 500 mL Dreihalskolben mit Rückflusskühler werden 10 g (149,11 mmol bzgl. der OH-Gruppen) 2,2'-Bis-(hydroxymethyl)-propionsäure und 26 mL (187,6 mmol) Triethylamin in 250 mL trockenem Dichlormethan unter Stickstoff vorgelegt. Es werden 16 mL (161,42 mmol; 1,1 eq) 2-Chloropropionylchlorid zugetropft. Es entsteht ein weißer Niederschlag aus Hydrochlorid. Die Mischung wird 1,5 h bei 0 °C und weitere 2 h bei Raumtemperatur gerührt. Das Lösungsmittel wird unter Vakuum entfernt, das Rohprodukt in Diethylether aufgenommen und mit 2 N Salzsäure extrahiert. Der viskose Rückstand wird mehrmals mit heißem Wasser gerührt und wieder in Diethylether aufgenommen. Das Lösungsmittel wird eingengt und das Produkt aus Petrolether kristallisiert.

**Ausbeute:** 24,30 g (77,38 mmol), 52 % (weißes, kristallines Produkt)



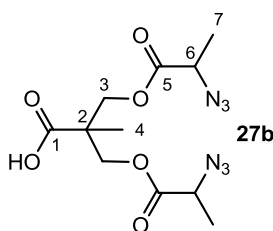
**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  in ppm): 1.3 (s, 3 H, H-4), 1.7 (d,  $J = 6,94$  Hz, 6 H, H-7), 4.5 – 4.3 (m, 6 H, H-3,6)

**EA** (exp. (theor.) in %): C: 41,13 (41,92); H: 5,04 (5,12); Cl: 22,64 (22,50)

### Darstellung des 2-arm Kerns mit Azid-Endgruppen (27b)

In einem trockenen Zweihalskolben mit Rückflusskühler werden 1 g (3,19 mmol)  $\text{AB}_2$ -Einheit **27a** in 25 ml DMSO vorgelegt. Zur Reaktionsmischung werden 1,24 g (19,11 mmol) Natriumazid zugegeben. Die Reaktion wird für 16 h bei 60 °C gerührt. Anschließend wird das Rohprodukt in dest.  $\text{H}_2\text{O}$  gegeben und dreimal mit Dichlormethan extrahiert. Das Lösungsmittel der vereinigten organischen Phasen wird am Rotationsverdampfer entfernt und das Produkt unter Hochvakuum getrocknet.

**Ausbeute:** 958 mg (2,36 mmol), 74% (gelblich, hochviskoses Produkt)



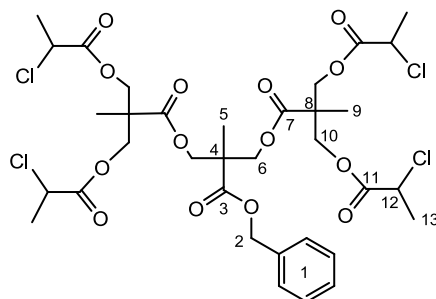
**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  in ppm): 1.3 (s, 3 H, H-4), 1.5 (d,  $J = 7,15$  Hz, 6 H, H-7), 3.9 (q,  $J = 7,13$  Hz, 2 H, H-6), 4.3 – 4.5 (m, 4 H, H-3)

**EA** (exp. (theor.) in %): C: 39,03 (40,25); H: 5,14 (4,91); N: 22,80 (25,60)

### Darstellung des 4-arm Kerns mit Chlorid-Endgruppen (28a)

In einem trockenen 100 mL Dreihalskolben mit Rückflusskühler werden 1 g (5,10 mmol, 1 eq.) Benzyl-2,2-bis(methylol)propionat und 3,68 g (11,72 mmol, 2 eq)  $\text{AB}_2$ -Einheit **27a** in 30 ml trockenem Dichlormethan vorgelegt. Es werden 0,39 g (1,34 mmol) DPTS und 2,76 g (13,4 mmol) DCC hinzugegeben. Anschließend wird die Reaktion für 24 h gerührt. Das ausgefallene Harnstoffnebenprodukt wird abgetrennt und das Lösungsmittel entfernt. Das Produkt wird mittels Säulenchromatographie mit einer Mischung aus Petrolether/Ethylacetat 1:1 aufgereinigt.

**Ausbeute:** 3,77 g (4,61 mmol), 90% (gelblich, hochviskoses Produkt)



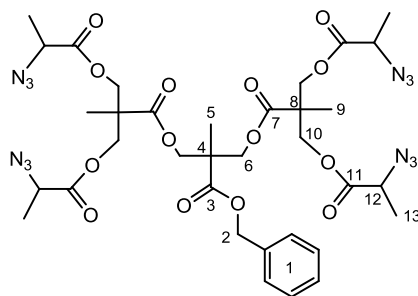
**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  in ppm): 1.2 (s, 6 H, H-9), 1.3 (s, 3 H, H-5), 1.7 (d,  $J = 7,1$  Hz, 12 H, H-13), 4.3 (m, 12 H, H-6,10), 4.4 (m, 4 H, H-12) 5.2 (s, 2H, H-2), 7.4 (m, 5 H, H-1)

**EA** (exp. (theor.) in %): C: 50,76 (49,89); H: 5,14 (5,42); Cl: 16,26 (17,33)

### Darstellung des 4-arm Kerns mit Azid-Endgruppen (28b)

Für die Substitutionsreaktion werden 1,03 g (1,27 mmol) **28a** und 0,428 g (6,59 mmol) Natriumazid in 6 mL DMF vorgelegt und für 24 h unter Stickstoff bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit 50 mL Wasser versetzt und dreimal mit je 50 mL Chloroform extrahiert. Das Lösungsmittel der vereinigten organischen Phasen wird entfernt.

**Ausbeute:** 0,95 g (1,13 mmol), 87 % (farbloses, viskoses Produkt)



**$^1\text{H-NMR}$**  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  in ppm): 1.15 (s, 6 H, H-9), 1.22 (s, 3 H, H-5), 1.4 (d,  $J = 7,1$  Hz, 12 H, H-13), 3,9 (q,  $J = 7,1$  Hz, H-12), 4.2 (m, 12 H, H-6,10), 5.1 (s, 2H, H-2), 7.3 (m, 5 H, H-1)

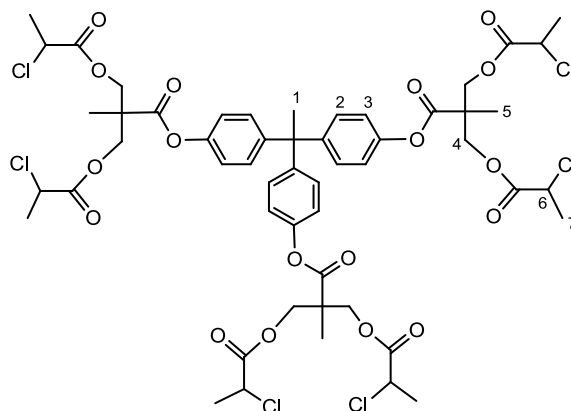
**EA** (exp. (theor.) in %): C: 48,99 (48,34); H: 5,65 (5,25); N: 19,46 (19,96)

### Darstellung des 6-arm Kerns mit Chlorid-Endgruppen (29a)

In einem trockenen 100 mL Dreihalskolben mit Rückflusskühler werden 1 g (3,26 mmol) 1,1,1-Tris(4-hydroxyphenyl)ethan und 3,16 g (10,06 mmol, 3,1 eq)  $\text{AB}_2$ -Einheit **27a** in 30 ml

trockenem Dichlormethan vorgelegt. Es werden 0,29 g DPTS und 3,06 g DCC hinzugegeben. Anschließend wird die Reaktion für 24 h gerührt. Der Niederschlag wird abfiltriert und das Lösungsmittel entfernt. Das Produkt wird säulenchromatographisch an Kieselgel mit einer Mischung aus PE/EE 1:1 aufgereinigt.

**Ausbeute:** 1,94 g (1,62 mmol), 50 % (weißes, viskoses Produkt)



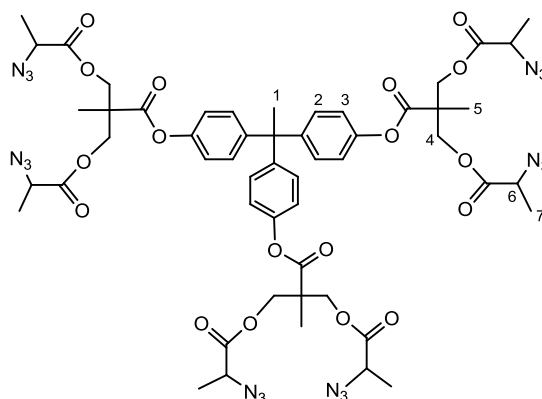
**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  in ppm): 1.15 (s, 9 H, H-5), 1.7 (d,  $J$  = 6,9 Hz, 18 H, H-7), 2.16 (s, 3 H, H-1), 4.4 – 4.5 (m, 18 H, H-4,6), 7,2 (m, 12 H, H-2,3)

**EA** (exp. (theor.) in %): C: 52,43 (53,15); H: 5,21 (5,05); Cl: 17,66 (17,76)

### Darstellung des 6-arm Kerns mit Azid-Endgruppen (29b)

Für die Substitutionsreaktion werden 1 g (0,99 mmol) **29a** und 0,5 g Natriumazid (7,69 mmol) in 12 mL DMF vorgelegt und 24 h unter Stickstoff bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch wird mit 50 mL Wasser versetzt und mit 20 mL Chloroform extrahiert. Das Lösungsmittel der vereinigten organischen Phasen wird entfernt.

**Ausbeute:** 0,95 g (1,13 mmol), 87 % (gelbes, viskoses Produkt)



**<sup>1</sup>H-NMR** (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>,  $\delta$  in ppm): 1.15 (s, 9 H, H-5), 1.7 (d,  $J = 6,9$  Hz, 12 H, H-7), 2.2 (s, 3 H, H-1), 3.91 (q,  $J = 7,1$  Hz, 6 H, H-6), 4.4 (m, 12 H, H-4), 7,2 (m, 12 H, H-2,3)

**EA** (exp. (theor.) in %): C: 52,43 (51,45); H: 5,21 (4,89); N: 19,77 (20,38)

### 9.3.5.2 Cu(I)-katalysierte „Click“-Reaktion

Unter Feuchtigkeitsausschluss und Stickstoffatmosphäre wird in einem 10 mL Schlenkrohr das azid-funktionalisierte Kern-Reagenz (**27b**, **28b**, **29b**) in abs. DMF gelöst. Zu dieser Lösung wird PBLG(propargyl) in äquimolarer Konzentration bezogen auf die Anzahl der Azid-Funktion des Kerns gegeben. Für die „Click“-Reaktion wird CuBr/PMDETA als Katalysatorsystem in einem molaren Verhältnis von 1:1 bezogen auf PBLG(propargyl) gegeben. Die Reaktionslösung wird für 24 h bei Raumtemperatur unter Stickstoff gerührt, wobei sich die Reaktion grün färbt. Für die Abtrennung von nicht reagiertem Polymer werden 40 – 60 mg Azid-funktionalisiertes Merrifield-Harz zur Reaktionslösung gegeben und für 6 h bei 60°C gerührt. Die Polymerlösung wird filtriert und zur Abtrennung des Cu-Katalysators über eine Alox-Säule gegeben. Das Filtrat wird konzentriert, in eisgekühltem Diethylether ausgefällt und einmal in Diethylether aus THF umgefällt.

In Tabelle 9.7 sind die Ansätze der „Click“-Reaktionen zusammengefasst.

Tabelle 9.7: Ansätze für die Cu(I)-katalysierte Azid-Alkin „Click“-Reaktion.

Nr.	azid-funktionalisiertes Kern-Reagenz	PBLG M <sub>n</sub> [g/mol]	PBLG (1 eq.)	CuBr / PMDETA	DMF [mL]
Stern-1	<b>27b</b> (2-arm)	4,6 mg	PBLG(propargyl)6	82 mg	3,4 mg /
	(0,5 eq)	1,20 10 <sup>-5</sup> mol	3400	2,4 10 <sup>-5</sup> mol	5 µL
Stern-2	<b>28b</b> (4-arm)	5 mg	PBLG(propargyl)6	81 mg	3,4 mg /
	(0,25 eq)	5,96 10 <sup>-6</sup> mol	3400	2,4 10 <sup>-5</sup> mol	5 µL
Stern-3	<b>29b</b> (6-arm)	7,2 mg	PBLG(propargyl)6	120 mg	5,1 mg /
	(0,17 eq)	5,8 10 <sup>-6</sup> mol	3400	3,5 10 <sup>-5</sup> mol	7,4 µL
Stern-4	<b>27b</b> (2-arm)	5,4 mg	PBLG(propargyl)5	120 mg	3,8 mg /
	(0,5 eq)	1,4 10 <sup>-5</sup> mol	4400	2,7 10 <sup>-5</sup> mol	5,7 µL
Stern-5	<b>28b</b> (4-arm)	3,8 mg	PBLG(propargyl)5	80 mg	2,6 mg /
	(0,25 eq)	4,5 10 <sup>-6</sup> mol	4400	1,8 10 <sup>-5</sup> mol	3,8 µL



Nr.	azid-funktionalisiertes Kern-Reagenz		PBLG M <sub>n</sub> [g/mol]	PBLG (1 eq.)	CuBr / PMDETA	DMF [mL]
Stern-6	<b>29b</b> (6-arm)	6,7 mg	PBLG(propargyl)5	143 mg	4,7 mg /	2,2
	(0,17 eq)	5,4 10 <sup>-6</sup> mol	4400	3,2 10 <sup>-5</sup> mol	6,8 µL	
Stern-7	<b>27b</b> (2-arm)	4,5 mg	PBLG(propargyl)8	120 mg	3,4 mg /	2,3
	(0,5 eq)	1,2 10 <sup>-5</sup> mol	5000	2,4 10 <sup>-5</sup> mol	5 µL	
Stern-8	<b>28b</b> (4-arm)	5 mg	PBLG(propargyl)8	122 mg	3,4 mg /	2,4
	(0,25 eq)	6 10 <sup>-6</sup> mol	5000	2,4 10 <sup>-5</sup> mol	5 µL	
Stern-9	<b>29b</b> (6-arm)	4,7 mg	PBLG(propargyl)8	117 mg	3,6 mg /	2,2
	(0,17 eq)	3,8 10 <sup>-6</sup> mol	5000	2,3 10 <sup>-5</sup> mol	5,2 µL	
Stern-10	<b>27b</b> (2-arm)	3,7 mg	PBLG(propargyl)9	120 mg	2,8 mg /	2,3
	(0,5 eq)	9,7 10 <sup>-6</sup> mol	6100	2 10 <sup>-5</sup> mol	4,1 µL	
Stern-11	<b>28b</b> (4-arm)	4,2 mg	PBLG(propargyl)9	120 mg	2,8 mg /	2,3
	(0,25 eq)	4,9 10 <sup>-6</sup> mol	6100	2 10 <sup>-5</sup> mol	4,1 µL	
Stern-12	<b>29b</b> (6-arm)	4 mg	PBLG(propargyl)9	120 mg	2,8 mg /	2,4
	(0,17 eq)	3,3 10 <sup>-6</sup> mol	6100	2 10 <sup>-5</sup> mol	4,1 µL	
Stern-13	<b>27b</b> (2-arm)	3,6 mg	PBLG(propargyl)4	150 mg	4 mg /	1,9
	(0,5 eq)	9,5 10 <sup>-6</sup> mol	7900	1,9 10 <sup>-5</sup> mol	5,9 µL	
Stern-14	<b>28b</b> (4-arm)	4 mg	PBLG(propargyl)4	150 mg	4 mg /	1,9
	(0,25 eq)	4,7 10 <sup>-6</sup> mol	7900	1,9 10 <sup>-5</sup> mol	5,9 µL	
Stern-15	<b>29b</b> (6-arm)	3,9 mg	PBLG(propargyl)4	150 mg	4 mg /	1,9
	(0,17 eq)	3,1 10 <sup>-6</sup> mol	7900	1,9 10 <sup>-5</sup> mol	5,9 µL	
Stern-16	<b>27b</b> (2-arm)	2 mg	PBLG(propargyl)10	120 mg	1,5 mg /	2,5
	(0,5 eq)	5,2 10 <sup>-6</sup> mol	11500	1 10 <sup>-5</sup> mol	2,2 µL	
Stern-17	<b>28b</b> (4-arm)	2,2 mg	PBLG(propargyl)10	120 mg	1,5 mg /	2,3
	(0,25 eq)	2,6 10 <sup>-6</sup> mol	11500	1 10 <sup>-5</sup> mol	2,2 µL	
Stern-18	<b>29b</b> (6-arm)	2,2 mg	PBLG(propargyl)10	120 mg	1,5 mg /	2,4
	(0,17 eq)	1,7 10 <sup>-6</sup> mol	11500	1 10 <sup>-5</sup> mol	2,2 µL	
Stern-19	<b>27b</b> (2-arm)	2,5 mg	PBLG-(Ni)6	300 mg	1,9 mg /	2
	(0,5 eq)	6,5 10 <sup>-6</sup> mol	23000	1,3 10 <sup>-5</sup> mol	2,7 µL	
Stern-20	<b>28b</b> (4-arm)	2 mg	PBLG-(Ni)8	172 mg	1,4 mg /	3
	(0,25 eq)	2,4 10 <sup>-6</sup> mol	18000	9,5 10 <sup>-6</sup> mol	2 µL	
Stern-21	<b>29b</b> (6-arm)	1,5 mg	PBLG-(Ni)6	170 mg	1,1 mg /	1,9
	(0,17 eq)	1,2 10 <sup>-6</sup> mol	23000	7,4 10 <sup>-6</sup> mol	1,5 µL	

### 9.3.5.3 Reinigungsmethoden zur Abtrennung von Homopolymer

#### Synthese von azid-funktionalisierten MERRIFIELD-Harz<sup>[205]</sup>

Kommerziell erhältliches Merrifield-Harz (9,5 g; 14,25 mmol) wird in 90 mL DMSO gegeben. Zur Dispersion werden 2,9 g (45 mmol) Natriumazid gegeben und unter Rückfluss für 3 Tage gerührt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur wird die Suspension mit Wasser ausgeschüttelt. Der Feststoff wird abfiltriert, mit Wasser, Aceton, Dichlormethan gewaschen und im Vakuumofen bei Raumtemperatur getrocknet. Das azid-funktionalisierte Merrifield wird in quantitativen Ausbeuten erhalten.

#### “Salting-out”-Verfahren<sup>[49]</sup>

Nach der beschriebenen Prozedur wird das Polymer in DMF (5 % w/v) gelöst und solange mit einer kleinen Menge LiBr versetzt bis die Lösung trüb wird. Der feine Niederschlag wird filtriert, in DMF gelöst und wieder in Diethylether ausgefällt.

#### Dialyseverfahren

Für die Dialyse werden Membranschläuche aus regenerierter Cellulose (ZelluTrans, Roth) mit einem MWCO von 12000 bis 14000 Da verwendet. Die Dialyse wird gegen das Lösungsmittelgemisch DMF/THF mit einem Verhältnis von 1:1 für 4-5 Tage durchgeführt. Anschließend wird die Polymerlösung unter Vakuum eingengt und das Polymer in eisgekühltem Diethylether ausgefällt.



Tabelle 9.8: Ansätze der NMP von Styrol bei 125 °C.

Ansatz	[M]/[I]	Initiator <sup>&amp;</sup>	Styrol	Anisol [mL]	DMF [mL]	Umsatz [%]	Zeit [h]
NMP-TEMPO-1*	450	1,93 10 <sup>-5</sup> mol (9,4 mg)	8,68 10 <sup>-3</sup> mol (1 mL)	1	3,5	27	45
NMP-TEMPO-2*	600	1,44 10 <sup>-5</sup> mol (7,0 mg)	8,68 10 <sup>-3</sup> mol (1 mL)	1	1,5	36	47
NMP-TIPNO-1	600	1,45 10 <sup>-5</sup> mol (8 mg)	8,68 10 <sup>-3</sup> mol (1 mL)	0,6	1	60	25
NMP-TIPNO-2	900	9,62 10 <sup>-6</sup> mol (5,3 mg)	8,68 10 <sup>-3</sup> mol (1 mL)	0,6	1	61	25
NMP-BIPNO-1	400	3,26 10 <sup>-5</sup> mol (17 mg)	1,3 10 <sup>-2</sup> mol (1,5 mL)	0,8	1,5	62	6
NMP-BIPNO-2	600	2,17 10 <sup>-5</sup> mol (11 mg)	1,3 10 <sup>-2</sup> mol (1,5 mL)	0,8	1,5	53	7

\* Die Polymerisationsversuche mit TEMPO wurden bereits in der Diplomarbeit<sup>[217]</sup> durchgeführt, für einen Vergleich der Ansätze für die kinetischen Untersuchungen sind diese ebenfalls angegeben

<sup>&</sup>NMP-TEMPO = N<sub>α</sub>-Alloc-L-leucin-aminomethyl-PhEt-TEMPO; NMP-TIPNO = N<sub>α</sub>-Alloc-L-leucinamino-methyl-PhEt-TIPNO; NMP-BIPNO = N<sub>α</sub>-Alloc-L-leucin-aminomethyl-PhEt-BIPNO

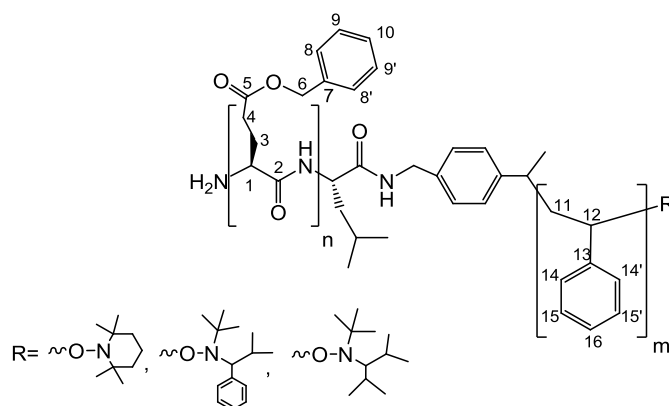
Die Ergebnisse der Kinetikuntersuchungen von NMP-BIPNO-1 sind in der Tabelle 9.9 zusammengefasst.

Tabelle 9.9: Ergebnisse der Kinetikuntersuchungen der NMP-BIPNO-1 nach verschiedenen Zeiten.

NMP	Zeit [h]	Umsatz [%]	M <sub>n(theo)</sub>	M <sub>n(GPC)</sub>	PD
NMP-BIPNO-1a	1	24	10000	11600	1,07
NMP-BIPNO-1b	2	36	15000	17700	1,09
NMP-BIPNO-1c	3	44	18000	21700	1,12
NMP-BIPNO-1d	4	52,5	21900	24200	1,16
NMP-BIPNO-1e	5	59	24600	26600	1,19
NMP-BIPNO-1f	6	62	25800	29600	1,14.

### 9.3.6.2 PBLG-makroinitiierte NMP von Styrol

In einem 25 mL Schlenkkolben wird unter Feuchtigkeits- und Sauerstoffausschluss der PBLG-Makroinitiator in abs. DMF gelöst. Unter Stickstoffatmosphäre werden das Monomer Styrol und Anisol als interner Standard gegeben. Die Reaktion rührt bei einer Polymerisationstemperatur von 125 °C. Für die Bestimmung des Monomerverbrauchs werden jeweils 100 µL Probe im Stickstoffgegenstrom entnommen, in Methanol gefällt und das Polymer abfiltriert. Die Fällungslösung wird anschließend am Gaschromatographen vermessen. Beendet wird die Polymerisation durch Abkühlen der Lösung im Eisbad. Das Blockcopolymer wird in Methanol ausgefällt, isoliert, getrocknet und noch einmal in Methanol aus THF umgefällt. Die Ansätze der PBLG-makroinitiierten NMP von Styrol sind in der Tabelle 9.10 zusammengefasst.



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, CDCl<sub>3</sub> + 15 wt% TFA,  $\delta$  in ppm): 1.42 (m, 2 H, H-11), 1.74 (m, 1 H, H-12), 2.56 (m, 2 H, H-3), 2.58 (m, 2 H, H-4), 3.81 (m, 1 H, H-1), 4.93 (s, 2 H, H-6), 6.49 (m, 3 H, H-15,15',16), 6.98 (m, 2 H, H-14,14'), 7.14 (m, 5 H, H-8,8',9,9',10)

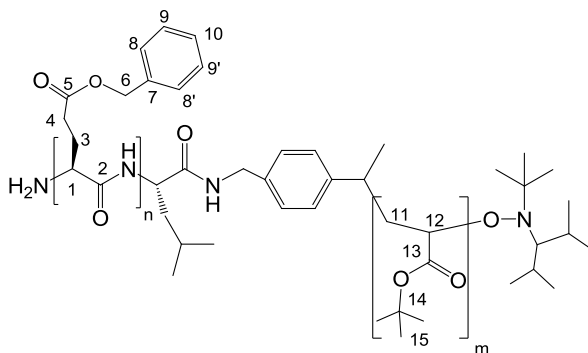
**FT-IR** (KBr-Pressling, in cm<sup>-1</sup>): 3290 (NH-Valenz), 3035 (Aryl-H-Valenz), 2923 (aliphatische CH-Valenz), 1734 (C=O), Ester 1652 (C=O Valenz, Amid I), 1548 (C=O Valenz, Amid II), 1452 (CH<sub>2</sub>, CH-Deformation), 738 (out of plane Schwingung, monosubstituierter Aromat)

Tabelle 9.10: Ansätze der PBLG-makroinitiierte NMP von Styrol bei 125 °C.

Ansatz	[M]/[I]	PBLG M <sub>n</sub> [g/mol]	PBLG	Styrol	Anisol [mL]	DMF [mL]	Umsatz [%]	Zeit [h]
PBLG- <i>b</i> - PS-1	400	PBLG-(Ni)19 32000	9,77 10 <sup>-6</sup> (327 mg)	3,9 10 <sup>-3</sup> mol (0,45 mL)	1	3	31	6
PBLG- <i>b</i> - PS-2	600	PBLG-(Ni)19 32000	6,51 10 <sup>-6</sup> (208 mg)	3,9 10 <sup>-3</sup> mol (0,45 mL)	1	3	39	7
PBLG- <i>b</i> - PS-3	600	PBLG-(Ni)18 40000	6,51 10 <sup>-6</sup> (260 mg)	3,9 10 <sup>-3</sup> mol (0,45 mL)	0,6	2	34	5
PBLG- <i>b</i> - PS-4	600	PBLG-(Ni)24 23000	1,33 10 <sup>-5</sup> mol (305 mg)	8,68 10 <sup>-3</sup> mol (1 mL)	0,6	2	43	6,5
PBLG- <i>b</i> - PS-5	500	PBLG-(Ni) 32000	1,38 10 <sup>-5</sup> mol (440 mg)	6,96 10 <sup>-3</sup> mol (0,8 mL)	0,6	2	35	6
PBLG- <i>b</i> - PS-6	540	PBLG-(Ni)26 27000	1,61 10 <sup>-5</sup> mol (435 mg)	8,68 10 <sup>-3</sup> mol (1 mL)	0,6	2	57	7
PBLG- <i>b</i> - PS-7	300	PBLG-(Ni) 17000	2,9 10 <sup>-5</sup> (490 mg)	8,68 10 <sup>-3</sup> mol (1 mL)	0,6	1,5	49	7
PBLG- <i>b</i> - PS-8	360	PBLG-(Ni)30 32000	2,44 10 <sup>-5</sup> (780 mg)	8,68 10 <sup>-3</sup> mol (1 mL)	0,6	2	42	7

### 9.3.6.3 PBLG-makroinitiierte NMP von tBA

In einem 10 mL Schlenkrohr wird unter Feuchtigkeits- und Sauerstoffausschluss der PBLG-Makroinitiator in abs. DMF gelöst. Unter Stickstoffatmosphäre werden das Monomer tBA und BIPNO (0,05 eq, bezogen auf den Initiator) zur Reaktionslösung gegeben. Die Reaktion rührt bei einer Polymerisationstemperatur von 125 °C. Die Polymerisation wird durch Abkühlen der Lösung im Eisbad beendet. Das Blockcopolymer wird in eiskaltem Methanol/Wasser-Gemisch (70:30) ausgefällt, isoliert, getrocknet und noch einmal aus THF umgefällt. Für die Umsatzbestimmung mittels GC wird zusätzlich Anisol als interner Standard gegeben. Die Ansätze der PBLG-makroinitiierten NMP von tBA sind in der Tabelle 9.11 zusammengefasst.



**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  in ppm): 1.44 (s, 9 H, H-15), 1.84 (m, 1 H, H-12), 2.22 (m, 2 H, H-11), 2.23 (m, 2 H, H-3), 2.58 (m, 2 H, H-4), 3.74 (m, 1 H, H-1), 4.98 (s, 2 H, H-6), 7.14 (m, 5 H, H-8,8',9,9',10)

Tabelle 9.11: Ansätze der PBLG-makroinitiierten NMP von tBA bei 125°C.

Ansatz	[M]/[I]	PBLG $M_n$ [g/mol]	PBLG	tBA	Anisol [mL]	DMF [mL]	Umsatz [%]	Zeit [h]
PBLG- <i>b</i> - PtBA-1	210	8000	$2,77 \cdot 10^{-5}$ mol (220 mg)	$5,82 \cdot 10^{-3}$ mol (0,85 mL)	--	1	n.b.	5
PBLG- <i>b</i> - PtBA-2 <sup>E</sup>	340	18000	$1,39 \cdot 10^{-5}$ mol (250 mg)	$4,76 \cdot 10^{-3}$ mol (0,7 mL)	--	1	55*	5
PBLG- <i>b</i> - PtBA-3	340	22000	$2,02 \cdot 10^{-5}$ mol (444 mg)	$6,84 \cdot 10^{-3}$ mol (1 mL)	0,6	1,5	93 <sup>S</sup>	4,5

\*Umsatzbestimmung erfolgte mittels Gravimetrie.

<sup>S</sup> Umsatzbestimmung erfolgte mittels Gaschromatographie.

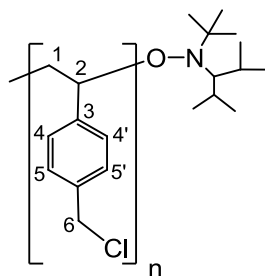
### 9.3.7 Darstellung der PBLG-Bürsten

#### 9.3.7.1 Synthese des Rückgrats

##### Synthese von PVBC

Unter Feuchtigkeitsausschluss und Stickstoffatmosphäre werden Cl-PhEt-BIPNO als NMP-Initiator und frisch destilliertes *p*-Vinylbenzylchlorid (VBC) als Monomer in trockenem THF gelöst. Die kontrolliert radikalische Polymerisation von VBC wird für 4 h bei 125 °C durchgeführt. Anschließend wird die Polymerisation durch Abkühlen in einem Eisbad abgebrochen und das Polymer in eisgekühltem Methanol ausgefällt, isoliert, getrocknet und

noch einmal aus THF umgefällt. Die Einwaagen zur Synthese von PVBC sowie die GPC-MALLS Ergebnisse sind in der Tabelle 9.12 zusammengefasst.



**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  in ppm): 1.41 (m, 1 H, H-2), 1.71 (m, 2 H, H-1), 4.53 (s, 2 H, H-6), 6.42 – 7.06 (m, 4 H, H-4,4',5,5')

Tabelle 9.12: Einwaagen, erzielte Umsätze und GPC-Ergebnisse der Synthese von PVBC mittels NMP bei 125 °C für 4 h.

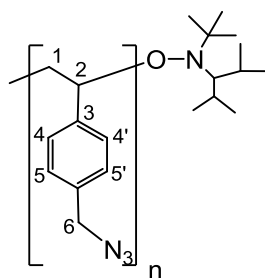
Ansatz	[M]/[I]	Initiator	VBC	THF [mL]	Umsatz [%]	$M_{n(\text{theo})}$	$M_{n(\text{GPC})}$	PD
PVBC-1	16	6,02 $10^{-4}$ mol (204 mg)	9,83 $10^{-3}$ mol (1,5 g)	1,5	91	2300	3200	1,16
PVBC-2	33	2,0 $10^{-4}$ mol (68 mg)	6,55 $10^{-3}$ mol (1 g)	0,8	85	4300	5000	1,15

### Synthese von PVBAz

Exemplarisch wird die Synthese von PVBAz-2 vorgestellt:

Für die nucleophile Substitution werden 0,814 mg (5,355 mmol, bezogen auf die Monomereinheit) PVBC-2 in 10 mL THF/DMSO-Mischung in einem Verhältnis von 1:1 gelöst. Zur Reaktionsmischung werden 3 eq. Natriumazid (1,03 g, 15,96 mol) gegeben. Die Reaktion rührt unter Rückfluss für 4 h. Anschließend werden ca. 100 mL Wasser zur Lösung gegeben und dreimal mit je 50 mL Ethylacetat extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen werden über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, das Lösungsmittel eingengt und das Polymer in eisgekühltem Methanol ausgefällt. Das Polymer wird noch einmal aus THF in Methanol umgefällt. Es werden gelbfarbende Kristalle erhalten. Die GPC-MALLS Ergebnisse von PVBAz sind in der Tabelle 9.13 zusammengefasst.





**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$  in ppm): 1.41 (m, 1 H, H-2), 1.71 (m, 2 H, H-1), 4.26 (s, 2 H, H-6), 6.42 – 7.06 (m, 4 H, H-4,4',5,5')

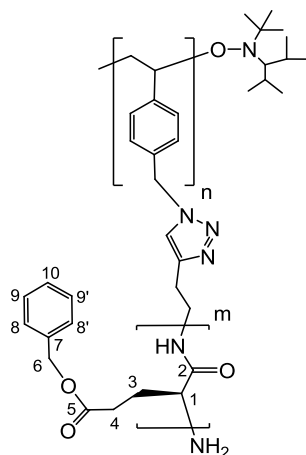
Tabelle 9.13: GPC-Ergebnisse der Substitutionsreaktion zur Darstellung von PVBAz.

Polymer	PVBC	$M_n(\text{GPC})$	$P_n$	PD
PVBAz-1	PVBC-1	2700	17	1,05
PVBAz-2	PVBC-2	6400	40	1,06

### 9.3.7.2 „grafting-onto“-Syntheseansatz

Unter Feuchtigkeitsausschluss und Stickstoffatmosphäre wird in einem 10 mL Schlenkrohr das PVBAz als Polymerrückgrat in abs. DMF gelöst. Zu dieser Lösung wird PBLG(propargyl) als Seitenkette in äquimolarer Konzentration (bezogen auf die Monomereinheit des PVBAz,  $M_0 = 159 \text{ g/mol}$ ) gegeben. Für die „Click“-Reaktion wird das Katalysatorsystem  $\text{CuBr/PMDETA}$  in einem molaren Verhältnis von 1:1 bezogen auf PBLG(propargyl) gegeben. Die Reaktionslösung wird für 24 h bei Raumtemperatur unter Stickstoff gerührt, wobei sich die Reaktion von blau zu grün färbt. Zur Abtrennung des Cu-Katalysators wird die Polymerlösung über eine Alox-Säule gegeben. Das Filtrat wird konzentriert, in eisgekühltem Diethylether ausgefällt und noch einmal in Diethylether aus DMF umgefällt.

In Tabelle 9.14 sind die Einwaagen der Voruntersuchungen zu den „Click“-Reaktionen mit verschiedenen molaren Verhältnissen von Azid zu Propargyl zusammengefasst.



**$^1\text{H-NMR}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3 + 15 \text{ wt\% TFA}$ ,  $\delta$  in ppm): 2.14 – 2.54 (m, 2 H, H-3), 2.44 (m, 2 H, H-4), 3.91 (m, 1 H, H-1), 5.01 (m, 2 H, H-6), 7.21 (m, 5 H, H-8,8',9,9',10), 8.26 (br. s, 1 H, NH)

**FT-IR** (KBr-Pressling, in  $\text{cm}^{-1}$ ): 3290 (NH-Valenz), 3035 (Aryl-H-Valenz), 2957 (aliphatische CH-Valenz), 2100 (Azid-Valenz, PVBAz), 1734 (C=O, Ester), 1652 (C=O-Valenz, Amid I), 1549 (C=O-Valenz, 1454 ( $\text{CH}_2$ , CH-Deformation), 1165 (C-C Dehnung), 778 (*out of plane* Schwingung, monosubstituierter Aromat)

Tabelle 9.14: Ansätze für die Voruntersuchungen der „Click“-Reaktionen mit verschiedenen Verhältnissen von Azid zu Propargyl.

Ansatz	PVBAz ( $M_0 = 159 \text{ g/mol}$ )	PBLG $M_n [\text{g/mol}]$	PBLG	$n_{\text{Azid}} / n_{\text{Propargyl}}$	CuBr / PMDETA	DMF [mL]
PVBAz-g-PBLG-1	PVBAz-1 $P_n = 17$ 3,9 mg $2,44 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$	PBLG(propargyl)11 4200	100 mg $2,44 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$	1:1	3,5 mg / 5,1 $\mu\text{L}$	1,5
PVBAz-g-PBLG-2	PVBAz-2 $P_n = 40$ 3,9 mg $2,44 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$	PBLG(propargyl)11 4200	100 mg $2,44 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$	1:1	3,5 mg / 5,1 $\mu\text{L}$	1,5
PVBAz-g-PBLG-3	PVBAz-1 $P_n = 17$ 11 mg $7,14 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$	PBLG(propargyl)11 4200	150 mg $3,57 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$	2:1	5,1 mg / 7,4 $\mu\text{L}$	1,6
PVBAz-g-PBLG-4	PVBAz-2 $P_n = 40$ 11 mg $7,14 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$	PBLG(propargyl)11 4200	150 mg $3,57 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$	2:1	5,1 mg / 7,4 $\mu\text{L}$	1,6
PVBAz-g-PBLG-5	PVBAz-2 $P_n = 40$ 6,5 mg $4,09 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$	PBLG(propargyl)5 4400	120 mg $2,73 \cdot 10^{-5} \text{ mol}$	1,5:1	3,9 mg / 5,7 $\mu\text{L}$	2,4

Die Ansätze von weiteren Cu(I)-katalysierten „Click“-Reaktionen zur Darstellung von PBLG-Bürsten mit verschiedenen molaren Azid/Propargyl-Verhältnissen (1,5:1 und 2:1) sind in Tabelle 9.15 zusammengefasst.

Tabelle 9.15: Ansätze für die Synthese von PBLG-Bürsten mittels CuAAC.

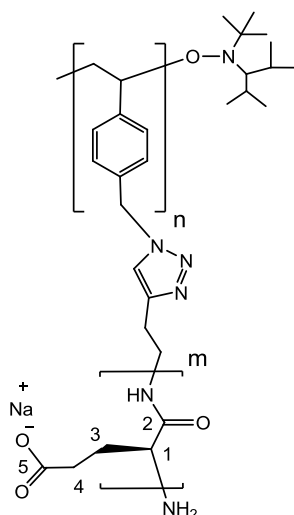
Ansatz	PVBaz ( $M_0 = 159$ g/mol)	PBLG $M_n$ [g/mol]	PBLG	$n_{\text{Azid}} / n_{\text{Propargyl}}$	CuBr / PMDETA	DMF [mL]
PVBaz <sub>17</sub> - g-PBLG <sub>16</sub>	PVBaz-1 $P_n = 17$ 11 mg $7,06 \cdot 10^{-5}$ mol	PBLG(propargyl)6 3400	125 mg $3,68 \cdot 10^{-5}$ mol	2:1	5,1 mg / 7,4 $\mu\text{L}$	1,7
PVBaz <sub>40</sub> - g-PBLG <sub>16</sub>	PVBaz-2 $P_n = 40$ 8,4 mg $5,29 \cdot 10^{-5}$ mol	PBLG(propargyl)6 3400	120 mg $3,53 \cdot 10^{-5}$ mol	1,5:1	5,1 mg / 7,4 $\mu\text{L}$	1,8
PVBaz <sub>40</sub> - g-PBLG <sub>20</sub>	PVBaz-2 $P_n = 40$ 6,5 mg $4,09 \cdot 10^{-5}$ mol	PBLG(propargyl)5 4400	120 mg $2,73 \cdot 10^{-5}$ mol	1,5:1	3,9 mg / 5,7 $\mu\text{L}$	2,4
PVBaz <sub>17</sub> - g-PBLG <sub>23</sub>	PVBaz-1 $P_n = 17$ 9,5 mg $6 \cdot 10^{-5}$ mol	PBLG(propargyl)8 5000	150 mg $3 \cdot 10^{-5}$ mol	2:1	4,3 mg / 6,3 $\mu\text{L}$	3
PVBaz <sub>40</sub> - g-PBLG <sub>23</sub>	PVBaz-2 $P_n = 40$ 5,1 mg $3,21 \cdot 10^{-5}$ mol	PBLG(propargyl)8 5000	107 mg $2,14 \cdot 10^{-5}$ mol	1,5:1	4,6 mg / 6,7 $\mu\text{L}$	3,4
PVBaz <sub>17</sub> - g-PBLG <sub>28</sub>	PVBaz-1 $P_n = 17$ 7,8 mg $4,92 \cdot 10^{-5}$ mol	PBLG(propargyl)6 6100	150 mg $2,46 \cdot 10^{-5}$ mol	2:1	5,3 mg / 7,7 $\mu\text{L}$	2
PVBaz <sub>40</sub> - g-PBLG <sub>28</sub>	PVBaz-2 $P_n = 40$ 5,9 mg $3,69 \cdot 10^{-5}$ mol	PBLG(propargyl)6 6100	150 mg $2,46 \cdot 10^{-5}$ mol	1,5:1	3,5 mg / 5,1 $\mu\text{L}$	2
PVBaz <sub>17</sub> - g-PBLG <sub>33</sub>	PVBaz-1 $P_n = 17$ 6,7 mg $4,21 \cdot 10^{-5}$ mol	PBLG(propargyl)12 7300	152 mg $2,08 \cdot 10^{-5}$ mol	2:1	3 mg / 4,4 $\mu\text{L}$	1,8
PVBaz <sub>17</sub> - g-PBLG <sub>49</sub>	PVBaz-1 $P_n = 17$ 3 mg $1,87 \cdot 10^{-5}$ mol	PBLG(propargyl)7 10700	100 mg $9,35 \cdot 10^{-6}$ mol	2:1	1,4 mg / 2 $\mu\text{L}$	2,5
PVBaz <sub>40</sub> - g-PBLG <sub>49</sub>	PVBaz-2 $P_n = 40$ 2,3 mg $1,4 \cdot 10^{-5}$ mol	PBLG(propargyl)7 10700	100 mg $9,35 \cdot 10^{-6}$ mol	1,5:1	1,3 mg / 2 $\mu\text{L}$	2,1

### 9.3.7.3 saure Hydrolyse von PBLG

Die saure Hydrolyse von PBLG-haltigen Pfropfcopolymeren wird in Anlehnung an die Vorschrift von BABIN et al. durchgeführt.<sup>[84]</sup> Exemplarisch wird die Hydrolyse von PVBAz<sub>17</sub>-g-PBLG<sub>49</sub> beschrieben.

In einem 10 mL Rundkolben mit Rückflusskühler werden 120 mg PVBAz<sub>17</sub>-g-PBLG<sub>49</sub> ( $M_n = 117000$  g/mol; 0,548 mmol bezogen auf die PBLG-Monomereinheit, 1 eq) in 2 mL TFA gelöst. Bezüglich der Anzahl der vorhandenen Monomereinheiten wird HBr im 4-fachen Überschuss (0,45 mL, 33 wt% HBr gelöst in Essigsäure) der Reaktionslösung hinzugefügt. Nach einer Rührzeit von 1 h bei Raumtemperatur wird das Hydrolyseprodukt in Diethylether ausgefällt, isoliert, mit Wasser gewaschen und unter Vakuum getrocknet. Für die Überführung der Poly(L-glutaminsäure) in das entsprechende Natrium-glutamat Salz (Na-PLGA) wird das Polymer in 0,1 M NaOH-Lösung (1,5 eq, bezogen auf die PLGA-Monomereinheit) gelöst und für 1 h gerührt. Die resultierende Lösung wird für 4 Tage gegen Wasser dialysiert. Das Polymer wird nach Gefriertrocknung der wässrigen Lösung erhalten.

**Ausbeute:** 70 mg (0,464 mmol), 85 %



**<sup>1</sup>H-NMR** (400 MHz, D<sub>2</sub>O,  $\delta$  in ppm) : 1.91 (m, 1 H, H-3), 2.02 (m, 1 H, H-3), 2.27 (m, 2 H, H-4), 4.32 (m, 1 H, H-1)

## 10 Literatur

- [1] T. J. Deming, *Adv. Mater.* **1997**, 9, 299-311.
- [2] G. D. Fasman, *Prediction of Protein Structure and the Principles of Protein Conformation*, Plenum New York, **1989**
- [3] L. Pauling and R. B. Corey, *Proc. N. A. S.* **1951**, 37, 241-250.
- [4] C. H. Bamford, L. Brown, A. Elliott, W. E. Hanby and I. F. Trotter, *Nature* **1952**, 169, 357-358.
- [5] A. Elliott, R. D. B. Fraser and T. P. MacRae, *J. Mol. Biol.* **1965**, 11, 821-IN811.
- [6] A. Elliott and E. M. Bradbury, *J. Mol. Biol.* **1962**, 5, 574-576.
- [7] E. R. Blout, R. H. Karlson, P. Doty and B. Hargitay, *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, 76, 4492-4493.
- [8] P. Doty, A. M. Holtzer, J. H. Bradbury and E. R. Blout, *J. Am. Chem. Soc.* **1954**, 76, 4493-4494.
- [9] E. R. Blout and R. H. Karlson, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 941-946.
- [10] E. R. Blout and M. Idelson, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 497-498.
- [11] P. Doty, J. H. Bradbury and A. M. Holtzer, *J. Am. Chem. Soc.* **1956**, 78, 947-954.
- [12] M. Goodman, E. E. Schmitt and D. A. Yphantis, *J. Am. Chem. Soc.* **1962**, 84, 1288-1296.
- [13] A. Wada, *J. Polym. Sci.* **1960**, 45, 145-153.
- [14] H. Ohe, H. Watanabe and K. Yoshioka, *Colloid Polym. Sci.* **1974**, 252, 26-31.
- [15] J. Gerber and H.-G. Elias, *Makromol. Chem.* **1968**, 112, 142-159.
- [16] H. Block, *Poly(-benzyl-L-glutamate) and other glutamic acid containing polymers*, Gordon and Breach Science Publishers: New York, **1983**
- [17] S. M. Yu, C. M. Soto and D. A. Tirrell, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, 122, 6552-6559.
- [18] C. Robinson and J. C. Ward, *Nature* **1957**, 180, 1183-1184.
- [19] D. L. Tipton and P. S. Russo, *Macromolecules* **1996**, 29, 7402-7411.
- [20] K. Tohyama and W. G. Miller, *Nature* **1981**, 289, 813-814.
- [21] C. Cai, L. Wang and J. Lin, *Chem. Commun.* **2011**, 47, 11189-11203.
- [22] J. Rodriguez-Hernandez and S. b. Lecommandoux, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, 127, 2026-2027.
- [23] J. G. Ray, S. S. Naik, E. A. Hoff, A. J. Johnson, J. T. Ly, C. P. Easterling, D. L. Patton and D. A. Savin, *Macromol. Rapid Commun.* **2012**, 33, 819-826.
- [24] T. J. Deming, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2002**, 54, 1145-1155.
- [25] T. J. Deming, *Prog. Polym. Sci.* **2007**, 32, 858-875.
- [26] K. Kataoka, A. Harada and Y. Nagasaki, *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2001**, 47, 113-131.
- [27] H. R. Kricheldorf,  *$\alpha$ -Aminoacid-N-Carboxyanhydrides and Related Materials*, Springer-Verlag: New York, **1987**, 1-280.
- [28] H. R. Kricheldorf, *Angew. Chem.* **2006**, 45, 5752-5784.
- [29] T. Aliferis, H. Iatrou and N. Hadjichristidis, *Biomacromolecules* **2004**, 5, 1653-1656.
- [30] W. Vayaboury, O. G. Hervé, C. A. Deratani and F. Schué, *Macromol. Rapid Commun.* **2004**, 25, 1221-1224.
- [31] R. J. I. Knoop, G. J. M. Habraken, N. Gogibus, S. Steig, H. Menzel, C. E. Koning and A. Heise, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2008**, 46, 3068-3077.
- [32] G. J. M. Habraken, M. Peeters, C. H. J. T. Dietz, C. E. Koning and A. Heise, *Polym. Chem.* **2010**, 1, 514-524.
- [33] I. Dimitrov and H. Schlaad, *Chem. Commun.* **2003**.
- [34] H. Lu and J. Cheng, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, 129, 14114-14115.
- [35] T. J. Deming, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 2759-2760.
- [36] T. J. Deming, *Nature* **1997**, 390, 386-389.

- [37] T. J. Deming, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 4240-4241.
- [38] T. J. Deming, *Macromolecules* **1999**, *32*, 4500-4502.
- [39] S. A. Curtin and T. J. Deming, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 7427-7428.
- [40] T. J. Deming, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2000**, *38*, 3011-3018.
- [41] T. Deming, H.-A. Klok and H. Schlaad in *Polypeptide and Polypeptide Hybrid Copolymer Synthesis via NCA Polymerization Peptide Hybrid Polymers*, Vol. 202 Springer Berlin / Heidelberg, **2006**, 1-18.
- [42] H.-A. Klok, *Angew. Chem.* **2002**, *114*, 1579-1583.
- [43] D. Appelhans, H. Komber, R. Kirchner, J. Seidel, C.-F. Huang, D. Voigt, D. Kuckling, F.-C. Chang and B. Voit, *Macromol. Rapid Commun.* **2005**, *26*, 586-591.
- [44] P. Niederhafner, J. Sebestík and J. Jezek, *J. Peptide Sci.* **2005**, *11*, 757-788.
- [45] K. Sadler and J. P. Tam, *Rev. Mol. Biotechnol.* **2002**, *90*, 195-229.
- [46] H.-A. Klok, J. R. Hernández, S. Becker and K. Müllen, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2001**, *39*, 1572-1583.
- [47] K. Inoue, S. Horibe, M. Fukae, T. Muraki, E. Ihara and H. Kayama, *Macromol. Biosci.* **2003**, *3*, 26-33.
- [48] S.-W. Kuo and H.-T. Tsai, *Polymer* **2010**, *51*, 5695-5704.
- [49] T. Aliferis, H. Iatrou and N. Hadjichristidis, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2005**, *43*, 4670-4673.
- [50] M. Lee, B. K. Cho and W. C. Zin, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3869-3892.
- [51] H.-A. Klok, H. Schlaad and H. Schlaad in *Solution Properties of Polypeptide-based Copolymers*, Vol. 202 Springer Berlin Heidelberg, **2006**, 53-73.
- [52] H. Kukula, H. Schlaad, M. Antonietti and S. Förster, *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 1658-1663.
- [53] H. Kukula, H. Schlaad and K. Tauer, *Macromolecules* **2002**, *35*, 2538-2544.
- [54] H.-A. Klok and S. Lecommandoux in *Solid-State Structure, Organization and Properties of Peptide—Synthetic Hybrid Block Copolymers*, Vol. 202 Springer Berlin / Heidelberg, **2006**, 75-111.
- [55] F. d. r. Checot, A. Brulet, J. Oberdisse, Y. Gnanou, O. Mondain-Monval and S. b. Lecommandoux, *Langmuir* **2005**, *21*, 4308-4315.
- [56] B. D. Olsen and R. A. Segalman, *Materials Science and Engineering: R: Reports* **2008**, *62*, 37-66.
- [57] A. P. Nowak, V. Breedveld, L. Pakstis, B. Ozbas, D. J. Pine, D. Pochan and T. J. Deming, *Nature* **2002**, *417*, 424-428.
- [58] E. G. Bellomo, M. D. Wyrsta, L. Pakstis, D. J. Pochan and T. J. Deming, *Nat. Mater.* **2004**, *3*, 244-248.
- [59] V. Breedveld, A. P. Nowak, J. Sato, T. J. Deming and D. J. Pine, *Macromolecules* **2004**, *37*, 3943-3953.
- [60] H. A. Klok, J. F. Langenwalter and S. Lecommandoux, *Macromolecules* **2000**, *33*, 7819-7826.
- [61] J.-P. Billot, A. Douy and B. Gallot, *Makromol. Chem.* **1977**, *178*, 1641-1650.
- [62] A. Douy and B. Gallot, *Polymer* **1982**, *23*, 1039-1044.
- [63] W. Agut, D. Taton and S. Lecommandoux, *Macromolecules* **2007**, *40*, 5653-5661.
- [64] C. Schatz, S. Louguet, J.-F. Le Meins and S. Lecommandoux, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 2572-2575.
- [65] S. Steig, F. Cornelius, P. Witte, B. B. P. Staal, C. E. Koning, A. Heise and H. Menzel, *Chem. Commun.* **2005**, 5420-5422.
- [66] M. Stern, S. Jurjevic, A. Heise and H. Menzel, *Macromol. Symp.* **2009**, 275-276, 67-72.
- [67] A. Niehoff, S. Jurjević, A. Heise and H. Menzel, *Macromol. Symp.* **2009**, 275-276, 82-89.

- [68] C. Feng, Y. Li, D. Yang, J. Hu, X. Zhang and X. Huang, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 1282-1295.
- [69] C. Cai, J. Lin, T. Chen and X. Tian, *Langmuir* **2009**, *26*, 2791-2797.
- [70] M. Sahl, S. Muth, R. Branscheid, K. Fischer and M. Schmidt, *Macromolecules* **2012**, *45*, 5167-5175.
- [71] C. Cai, W. Zhu, T. Chen, J. Lin and X. Tian, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2009**, *47*, 5967-5978.
- [72] Y.-L. Tu, C.-C. Wang and C.-Y. Chen, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2009**, *47*, 4655-4669.
- [73] Y. Imanishi, T. Kimura and T. Higashimura, *Polymer* **1981**, *22*, 1407-1414.
- [74] D. W. Chung, S. Higuchi, M. Maeda and S. Inoue, *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *108*, 5823-5826.
- [75] A. C. Engler, H.-i. Lee and P. T. Hammond, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 9334-9338.
- [76] H. Tang, Y. Li, S. H. Lahasky, S. S. Sheiko and D. Zhang, *Macromolecules* **2011**, *44*, 1491-1499.
- [77] H.-A. Klok, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2005**, *43*, 1-17.
- [78] M. Elsabahy and K. L. Wooley, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2012**, *50*, 1869-1880.
- [79] G. Floudas, P. Papadopoulos, H. A. Klok, G. W. M. Vandermeulen and J. Rodriguez-Hernandez, *Macromolecules* **2003**, *36*, 3673-3683.
- [80] A. Wada, *J. Chem. Phys.* **1959**, *30*, 328-329.
- [81] R. Sakamoto, *Colloid Polym. Sci.* **1984**, *262*, 788-792.
- [82] R. W. Duke, D. B. Du Pre, W. A. Hines and E. T. Samulski, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 3094-3101.
- [83] C. Deng, H. Tian, P. Zhang, J. Sun, X. Chen and X. Jing, *Biomacromolecules* **2006**, *7*, 590-596.
- [84] J. Babin, D. Taton, M. Brinkmann and S. Lecommandoux, *Macromolecules* **2008**, *41*, 1384-1392.
- [85] P. Y. Chou and G. D. Fasman, *Biochemistry* **1974**, *13*, 211-222.
- [86] H. Leuchs, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1906**, *39*, 857-861.
- [87] N. Hadjichristidis, H. Iatrou, M. Pitsikalis and G. Sakellariou, *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 5528-5578.
- [88] F. Wessely, *Z. Physiol. Chem.* **1925**, *146*, 72.
- [89] H. Block and C. H. Bamford, *Ibid.* **1961**, 4989.
- [90] T. J. Deming, *Adv Polym Sci* **2006**, *202*, 1-18.
- [91] H. R. Kricheldorf, *Angew. Chem.* **2006**, *118*, 5884-5917.
- [92] I. Dimitrov and H. Schlaad, *Chem. Commun.* **2003**, 2944-2945.
- [93] X. Zhang, M. Oddon, O. Giani, S. Monge and J.-J. Robin, *Macromolecules* **2010**, *43*, 2654-2656.
- [94] H. Lu and J. Cheng, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 12562-12563.
- [95] T. J. Deming and S. A. Curtin, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5710-5717.
- [96] T. J. Deming, *Nature* **1997**, *390*, 386-387.
- [97] S. Förster and M. Antonietti, *Adv. Mater.* **1998**, *10*, 195-217.
- [98] B. Perly, A. Douy and B. Gallot, *Makromol. Chem.* **1976**, *177*, 2569-2589.
- [99] A. Douy and B. Gallot, *Polymer* **1987**, *28*, 147-154.
- [100] A. Douy and B. Gallot, *Polym. Eng. Sci.* **1977**, *17*, 523-526.
- [101] H. Schlaad, B. Smarsly and M. Losik, *Macromolecules* **2004**, *37*, 2210-2214.
- [102] S. Ludwigs, G. Krausch, G. Reiter, M. Losik, M. Antonietti and H. Schlaad, *Macromolecules* **2005**, *38*, 7532-7535.
- [103] M. Losik, S. Kubowicz, B. Smarsly and H. Schlaad, *Eur. Phys. J. E* **2004**, *15*, 407-411.

- [104] H. Schlaad, B. Smarsly and I. Below, *Macromolecules* **2006**, *39*, 4631-4632.
- [105] E. A. Minich, A. P. Nowak, T. J. Deming and D. J. Pochan, *Polymer* **2004**, *45*, 1951-1957.
- [106] H. Schlaad, B. Smarsly and M. Losik, *Macromolecules* **2004**, *37*, 2210-2214.
- [107] A. Sánchez-Ferrer and R. Mezzenga, *Macromolecules* **2009**, *43*, 1093-1100.
- [108] E. Ibarboure and J. Rodríguez-Hernández, *Eur. Polym. J.* **2010**, *46*, 891-899.
- [109] D. E. Discher and A. Eisenberg, *Science* **2002**, *297*, 967-973.
- [110] M. S. Kim and D. S. Lee, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 4481-4483.
- [111] C. Nardin, J. Widmer, M. Winterhalter and W. Meier, *Eur. Phys. J. E* **2001**, *4*, 403-410.
- [112] D. T. Chiu, C. F. Wilson, A. Karlsson, A. Danielsson, A. Lundqvist, A. Stroemberg, F. Ryttsen, M. Davidson, S. Nordholm, O. Orwar and R. N. Zare, *Chem. Phys.* **1999**, *247*, 133-139.
- [113] A. Graff, M. Sauer, P. Van Gelder and W. Meier, *Proc. N. A. S.* **2002**, *99*, 5064-5068.
- [114] C.-S. Cho, J.-B. Cheon, Y.-I. Jeong, I.-S. Kim, S.-H. Kim and T. Akaike, *Macromol. Rapid Commun.* **1997**, *18*, 361-369.
- [115] M. K. Yoo, M. K. Jang, J. W. Nah, M. R. Park and C. S. Cho, *Macromol. Chem. Phys.* **2006**, *207*, 528-535.
- [116] L.-Y. Li, W.-D. He, J. Li, B.-Y. Zhang, T.-T. Pan, X.-L. Sun and Z.-L. Ding, *Biomacromolecules* **2010**, *11*, 1882-1890.
- [117] J. Rao, Y. Zhang, J. Zhang and S. Liu, *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 2586-2593.
- [118] J. Rao, Z. Luo, Z. Ge, H. Liu and S. Liu, *Biomacromolecules* **2007**, *8*, 3871-3878.
- [119] C.-J. Huang and F.-C. Chang, *Macromolecules* **2008**, *41*, 7041-7052.
- [120] X. Zhang, J. Li, W. Li and A. Zhang, *Biomacromolecules* **2007**, *8*, 3557-3567.
- [121] J. Li, T. Wang, D. Wu, X. Zhang, J. Yan, S. Du, Y. Guo, J. Wang and A. Zhang, *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 2670-2676.
- [122] B. Nottelet, A. El Ghzaoui, J. Coudane and M. Vert, *Biomacromolecules* **2007**, *8*, 2594-2601.
- [123] J. Wang, H. Lu, R. Kamat, S. V. Pingali, V. S. Urban, J. Cheng and Y. Lin, *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 12906-12909.
- [124] Y. Cong, N. Gunari, B. Zhang, A. Janshoff and M. Schmidt, *Langmuir* **2009**, *25*, 6392-6397.
- [125] S. S. Sheiko, B. S. Sumerlin and K. Matyjaszewski, *Prog. Polym. Sci.* **2008**, *33*, 759-785.
- [126] S. S. Sheiko, M. da Silva, D. Shirvaniants, I. LaRue, S. Prokhorova, M. Moeller, K. Beers and K. Matyjaszewski, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 6725-6728.
- [127] V. V. Rostovtsev, L. G. Green, V. V. Fokin and K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2002**, *41*, 2596-2599.
- [128] C. W. Tornøe, C. Christensen and M. Meldal, *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 3057-3064.
- [129] R. Huisgen, *1,3-Dipolar Cycloaddition Chemistry*, Wiley: New York, **1984**, 1-176.
- [130] J.-F. Lutz, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 1018-1025.
- [131] D. Fournier, R. Hoogenboom and U. S. Schubert, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 1369-1380.
- [132] P. L. Golas, N. V. Tsarevsky, B. S. Sumerlin and K. Matyjaszewski, *Macromolecules* **2006**, *39*, 6451-6457.
- [133] A. Blencowe, J. F. Tan, T. K. Goh and G. G. Qiao, *Polymer* **2009**, *50*, 5-32.
- [134] F. Audouin, R. J. I. Knoop, J. Huang and A. Heise, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2010**, *48*, 4602-4610.
- [135] N. Hadjichristidis, H. Iatrou, M. Pitsikalis and J. Mays, *Prog. Polym. Sci.* **2006**, *31*, 1068-1132.
- [136] N. Higashi, T. Koga and M. Niwa, *ChemBioChem.* **2002**, *3*, 448-454.



- [137] S. Qiu, H. Huang, X.-H. Dai, W. Zhou and C.-M. Dong, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2009**, *47*, 2009-2023.
- [138] U. Gupta, H. B. Agashe and N. K. Jain, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* **2007**, *3*, 358-367.
- [139] T. Aliferis, H. Iatrou, N. Hadjichristidis, J. Messman and J. Mays, *Macromol. Symp.* **2006**, *240*, 12-17.
- [140] A. Gitsas, G. Floudas, M. Mondeshki, H. J. Butt, H. W. Spiess, H. Iatrou and N. Hadjichristidis, *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 1959-1966.
- [141] C.-T. Yang, Y. Wang and Y.-C. Chang, *Biomacromolecules* **2010**, *11*, 1308-1313.
- [142] C.-T. Yang, Y. Wang, S. Yu and Y.-C. I. Chang, *Biomacromolecules* **2009**, *10*, 58-65.
- [143] P. Witte and H. Menzel, *Macromol. Chem. Phys.* **2004**, *205*, 1735-1743.
- [144] M. Kar, M. Pauline, K. Sharma, G. Kumaraswamy and S. Sen Gupta, *Langmuir* **2011**, *27*, 12124-12133.
- [145] M. Zhang and A. H. E. Müller, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2005**, *43*, 3461-3481.
- [146] M. Takaki, R. Asami, Y. Hanada and N. Ochiai, *Polym. Bull.* **1987**, *18*, 105-110.
- [147] Y.-L. Tu, C.-C. Wang and C.-Y. Chen, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2011**, *49*, 2866-2877.
- [148] B. Zhang, K. Fischer and M. Schmidt, *Macromol. Chem. Phys.* **2005**, *206*, 157-162.
- [149] H. Lu, J. Wang, Y. Lin and J. Cheng, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 13582-13583.
- [150] Y. Liu, P. Chen and Z. Li, *Macromol. Rapid Commun.* **2011**, *33*, 287-295.
- [151] C. Xiao, C. Zhao, P. He, Z. Tang, X. Chen and X. Jing, *Macromol. Rapid Commun.* **2010**, *31*, 991-997.
- [152] H. Tang and D. Zhang, *Biomacromolecules* **2010**, *11*, 1585-1592.
- [153] I. Dimitrov, H. Kukula, H. Cölfen and H. Schlaad, *Macromol. Symp.* **2004**, *215*, 383-393.
- [154] G.-Q. Zhu, F.-G. Wang, Y.-Y. Liu and Q.-C. Gao, *Fibers and Polymers* **2010**, *11*, 819-823.
- [155] K. R. Brzezinska, S. A. Curtin and T. J. Deming, *Macromolecules* **2002**, *35*, 2970-2976.
- [156] K. R. Brzezinska and T. J. Deming, *Macromolecules* **2001**, *34*, 4348-4354.
- [157] K. R. Brzezinska and T. J. Deming, *Macromol. Biosci.* **2004**, *4*, 566-569.
- [158] S. Abraham and C.-S. H. I. Kim, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2005**, *43*, 6367-6378.
- [159] S. Abraham, C.-S. Ha and I. Kim, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2006**, *44*, 2774-2783.
- [160] K. Wang, L. Liang, S. Lin and X. He, *Eur. Polym. J.* **2008**, *44*, 3370-3376.
- [161] A. J. Dirks, S. S. v. Berkel, N. S. Hatzakis, J. A. Opsteen, F. L. v. Delft, J. J. L. M. Cornelissen, A. E. Rowan, J. C. M. v. Hest, F. P. J. T. Rutjes and R. J. M. Nolte, *Chem. Commun.* **2005**, 4172-4174.
- [162] S. Steig, F. Cornelius, A. Heise, R. J. I. Knoop, G. J. M. Habraken, C. E. Koning and H. Menzel, *Macromol. Symp.* **2007**, *248*, 199-206.
- [163] A. Karatzas, H. Iatrou, N. Hadjichristidis, K. Inoue, K. Sugiyama and A. Hirao, *Biomacromolecules* **2008**, *9*, 2072-2080.
- [164] R. Yoda, Y. Hirokawa and T. Hayashi, *Eur. Polym. J.* **1994**, *30*, 1397-1401.
- [165] W. Liu and C.-M. Dong, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2011**, *49*, 3491-3498.
- [166] P. Degée, P. Dubois, R. Jérôme and P. Teyssié, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **1993**, *31*, 275-278.
- [167] C. Hua, C.-M. Dong and Y. Wei, *Biomacromolecules* **2009**, *10*, 1140-1148.
- [168] K. V. Bernaerts and F. E. D. Prez, *Prog. Polym. Sci.* **2006**, *31*, 671-722.
- [169] C. J. Hawker, A. W. Bosman and E. Harth, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3661-3688.

- [170] K. Matyjaszewski and T. P. Davis, *Handbook of Radical Polymerization*, John Wiley & Sons, New York, **2002**
- [171] E. Rizzardo, *Chem. Aust.* **1987**, 54.
- [172] D. Benoit, S. Grimaldi, J.-P. Finet, P. Tordo, M. Fontanille and Y. Gnanou, *Polym. Prepr.* **1997**, 38, 729.
- [173] J. Dao, D. Benoit and C. J. Hawker, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **1998**, 36, 2161-2167.
- [174] C. J. Hawker, *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, 116, 11185-11186.
- [175] S. Flakus, K. Mandel, M. Bartsch and G. Schmidt-Naake, *Macromol. Rapid Commun.* **2005**, 26, 1698-1703.
- [176] D. Benoit, E. Harth, P. Fox, R. M. Waymouth and C. J. Hawker, *Macromolecules* **2000**, 33, 363-370.
- [177] C. J. Hawker, G. G. Barclay, A. Orellana, J. Dao and W. Devonport, *Macromolecules* **1996**, 29, 5245-5254.
- [178] R. Braslau, L. C. Burrill, M. Siano, N. Naik, R. K. Howden and L. K. Mahal, *Macromolecules* **1997**, 30, 6445-6450.
- [179] S. O. Hammouch and J. M. Catala, *Macromol. Rapid Commun.* **1996**, 17, 149.
- [180] U. Jahn, *J. Org. Chem.* **1998**, 63, 7130-7131.
- [181] K. Matyjaszewski, S. Gaynor, D. Greszta, D. Mardare and T. Shigemoto, *Macromol. Symp.* **1995**, 98, 73.
- [182] M. Bothe and G. Schmidt-Naake, *Macromol. Rapid Commun.* **2003**, 24, 609-613.
- [183] K. Nakanishi, N. Berova and R. W. Woody, *Circular Dichroism: Principles and Applications*, VCH Publishers, Inc., New York, **1994**
- [184] H.-J. Galla and H.-J. Müller, *Spektroskopische Methoden in der Biochemie*, Thieme, **1988**
- [185] R. Winter and F. Noll, *Methoden der Biophysikalischen Chemie*, Teubner Studienbücher, Stuttgart, **1998**
- [186] N. J. Greenfield and G. D. Fasman, *Biochemistry* **1969**, 8, 4108-4116.
- [187] *Handbuch: Zetasizer nano series (Malvern), user manual, Issue 5.0., 2009*
- [188] W. Brown, *Light Scattering: Principles and Development*, United States by Oxford University Press Inc., New York, **1996**
- [189] H. Bubert and H. Jenett, *Surface and Thin Film Analysis*, Wiley-VCH Verlag GmbH, **2002**
- [190] G. Binnig, C. F. Quate and C. Gerber, *Phys. Rev. Lett.* **1986**, 56, 930-933.
- [191] S. N. Magonov, V. Elings and M. H. Whangbo, *Surface Science* **1997**, 375, L385-L391.
- [192] S. N. Magonov and D. H. Reneker, *Annu. Rev. Mat. Sci.* **1997**, 27, 175-222.
- [193] F. Fuchs, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **1922**, 55, 2943-2943.
- [194] A. C. Farthing, *J. Chem. Soc.* **1950**, 3213-3217.
- [195] W. D. Fuller, M. S. Verlander and M. Goodman, *Biopolymers* **1976**, 15, 1869-1871.
- [196] M. Szwarc, *Nature* **1956**, 178, 1168-1169.
- [197] J. Matyjaszewski, *Controlled Radical Polymerization*, American Chemical Society, **1998**
- [198] G. J. M. Habraken, K. H. R. M. Wilsens, C. E. Koning and A. Heise, *Polym. Chem.* **2011**, 2, 1322-1330.
- [199] W. H. Binder and R. Sachsenhofer, *Macromol. Rapid Commun.* **2007**, 28, 15-54.
- [200] H. Nandivada, X. Jiang and J. Lahann, *Adv. Mater.* **2007**, 19, 2197-2208.
- [201] A. Heise, J. L. Hedrick, M. Trollsas, R. D. Miller and C. W. Frank, *Macromolecules* **1999**, 32, 231-234.
- [202] M. Schnitter, *Untersuchung der Polyelektrolytadsorption an Monoschichten geladener Amphiphile*, Dissertation TU Braunschweig, Braunschweig, **2003**

- [203] M. Schnitter, J. Engelking, A. Heise, R. D. Miller and H. Menzel, *Macromol. Chem. Phys.* **2000**, *201*, 1504-1512.
- [204] C. A. Bell, Z. Jia, S. Perrier and M. J. Monteiro, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2011**, *49*, 4539-4548.
- [205] G. Chen, L. Tao, G. Mantovani, V. Ladmira, D. P. Burt, J. V. Macpherson and D. M. Haddleton, *Soft Matter* **2007**, *3*, 732-739.
- [206] H. Gao and K. Matyjaszewski, *Macromolecules* **2006**, *39*, 4960-4965.
- [207] H. Gao and K. Matyjaszewski, *Macromolecules* **2006**, *39*, 3154-3160.
- [208] R. Yoda, S. Komatsuzaki, E. Nakanishi, H. Kawaguchi and T. Hayashi, *Biomaterials* **1994**, *15*, 944-949.
- [209] Y. Li, B. Zhang, J. N. Hoskins and S. M. Grayson, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2012**, *50*, 1086-1101.
- [210] J.-G. Chen, M. Logman and S. G. Weber, *Electroanalysis* **1999**, *11*, 331-336.
- [211] H. Sigel and R. B. Martin, *Chem. Rev.* **1982**, *82*, 385-426.
- [212] J. Porath, *Biopolymers* **1987**, *26*, S193-S204.
- [213] H. Feng, Y. Zhao, M. Pelletier, Y. Dan and Y. Zhao, *Polymer* **2009**, *50*, 3470-3477.
- [214] J. Guo, Y. Huang, X. Jing and X. Chen, *Polymer* **2009**, *50*, 2847-2855.
- [215] D. Benoit, V. Chaplinski, R. Braslau and C. J. Hawker, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 3904-3920.
- [216] M. Drache, K. Mandel and G. Schmidt-Naake, *Polymer* **2007**, *48*, 1875-1883.
- [217] M. Stern in *Bifunktionelle Initiatoren für die Synthese von peptidhaltigen Stäbchen-Knäuel-Blockcopolymeren mit Nitroxidgruppen*, Diplomarbeit TU-Braunschweig, **2008**.
- [218] T. Schulte, C. A. Knoop and A. Studer, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2004**, *42*, 3342-3351.
- [219] T. Fukuda, T. Terauchi, A. Goto, K. Ohno, Y. Tsujii, T. Miyamoto, S. Kobatake and B. Yamada, *Macromolecules* **1996**, *29*, 6393-6398.
- [220] J. M. Catala, F. Bubel and S. O. Hammouch, *Macromolecules* **1995**, *28*, 8441-8443.
- [221] M. Souaille and H. Fischer, *Macromolecules* **2001**, *34*, 2830-2838.
- [222] A. Goto and T. Fukuda, *Prog. Polym. Sci.* **2004**, *29*, 329-385.
- [223] S. Hartwig, *unveröffentlichte Ergebnisse*, Vertiefungspraktikum, Makromolekulare Chemie, **2008**
- [224] F. R. Mayo, *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 1289-1295.
- [225] H. Pasch, *Macromol. Symp.* **2002**, *178*, 25-38.
- [226] J. Falkenhagen, J. F. Friedrich, G. Schulz, R. P. Krüger, H. Much and S. Weidner, *Int. J. Polym. Anal. Charact.* **2000**, *5*, 549-562.
- [227] M. Losik, S. Kubowicz, B. Smarsly and H. Schlaad, *Eur. Phys. J. E.* **2004**, *15*, 407-411.
- [228] D. Benoit, S. Grimaldi, S. Robin, J.-P. Finet, P. Tordo and Y. Gnanou, *J. Am. Chem. Soc.* **2000**, *122*, 5929-5939.
- [229] S. Srinivasan, M. W. Lee, M. C. Grady, M. Soroush and A. M. Rappe, *J. Phys. Chem. A* **2010**, *114*, 7975-7983.
- [230] C. Barner-Kowollik, *Macromol. Rapid Commun.* **2009**, *30*, 1961-1963.
- [231] C. R. Becer, R. M. Paulus, R. Hoogenboom and U. S. Schubert, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2006**, *44*, 6202-6213.
- [232] H. C. Kolb, M. G. Finn and K. B. Sharpless, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2001**, *40*, 2004-2021.
- [233] H. Gao and K. Matyjaszewski, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 6633-6639.
- [234] H. Fujita, A. Teramoto, K. Okita, T. Yamashita and S. Ikeda, *Biopolymers* **1966**, *4*, 769-779.
- [235] H. Fujita, A. Teramoto, T. Yamashita, K. Okita and S. Ikeda, *Biopolymers* **1966**, *4*, 781-791.

- [236] N. V. Tsarevsky, S. A. Bencherif and K. Matyjaszewski, *Macromolecules* **2007**, *40*, 4439-4445.
- [237] B. S. Sumerlin, N. V. Tsarevsky, G. Louche, R. Y. Lee and K. Matyjaszewski, *Macromolecules* **2005**, *38*, 7540-7545.
- [238] V. Darcos, S. El Habnoui, B. Nottelet, A. El Ghzaoui and J. Coudane, *Polym. Chem.* **2010**, *1*, 280-282.
- [239] J. D. Menczel and R. B. Prime, *Thermal analysis in polymers*, Wiley, Oxford, **2009**
- [240] F. Sanda, G. Gao and T. Masuda, *Macromol. Biosci.* **2004**, *4*, 570-574.
- [241] J. R. Parrish and E. R. Blout, *Biopolymers* **1971**, *10*, 1491-1512.
- [242] Y. P. Myer, *Macromolecules* **1969**, *2*, 624-628.
- [243] J. A. Morrow, M. L. Segall, S. Lund-Katz, M. C. Phillips, M. Knapp, B. Rupp and K. H. Weisgraber, *Biochemistry* **2000**, *39*, 11657-11666.
- [244] K. Lienkamp, C. Ruthard, G. Lieser, R. Berger, F. Groehn and G. Wegner, *Macromol. Chem. Phys.* **2006**, *207*, 2050-2065.
- [245] D.-Q. Yang, Y.-Q. Xiong, Y. Guo, D.-A. Da and W.-G. Lu, *J. Mater. Sci.* **2001**, *36*, 263-267.
- [246] D. Ben-Ishai and A. Berger, *J. Org. Chem.* **1952**, *17*, 1564-1570.
- [247] G. D. Fasman, M. Idelson and E. R. Blout, *J. Am. Chem. Soc.* **1961**, *83*, 709-712.
- [248] M. Idelson and E. R. Blout, *J. Am. Chem. Soc.* **1958**, *80*, 4631-4634.
- [249] J. Wang, H. Lu, Y. Ren, Y. Zhang, M. Morton, J. Cheng and Y. Lin, *Macromolecules* **2011**, *44*, 8699-8708.
- [250] H. Hayashi and A. Wada, *Biopolymers* **1981**, *20*, 695-705.
- [251] M. Rinaudo and A. Domard, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 6360-6364.
- [252] M. Nagasawa and A. Holtzer, *J. Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 538-543.
- [253] K. O. Siegenthaler and A. Studer, *Macromolecules* **2006**, *39*, 1347-1352.
- [254] Y. Guillaneuf, J.-P. Lamps, J.-M. Catala, D. Gigmes and E. Drockenmuller, *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem.* **2012**, *50*, 3750-3757.
- [255] W. D. Fuller, M. S. Verlander and M. Gutman, *Biopolymers* **1976**, *15*, 1869.
- [256] B. Carboni, A. Benanlil and M. Vaultier, *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 3736.
- [257] J. S. Moore and S. I. Stupp, *Macromolecules* **1990**, *23*, 65-70.
- [258] H. Ihre, A. Hult and E. Söderlind, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 6388-6395.
- [259] A. Heise, C. Nguyen, R. Malek, J. L. Hedrick, C. W. Frank and R. D. Miller, *Macromolecules* **2000**, *33*, 2346-2354.

## 11 Anhang

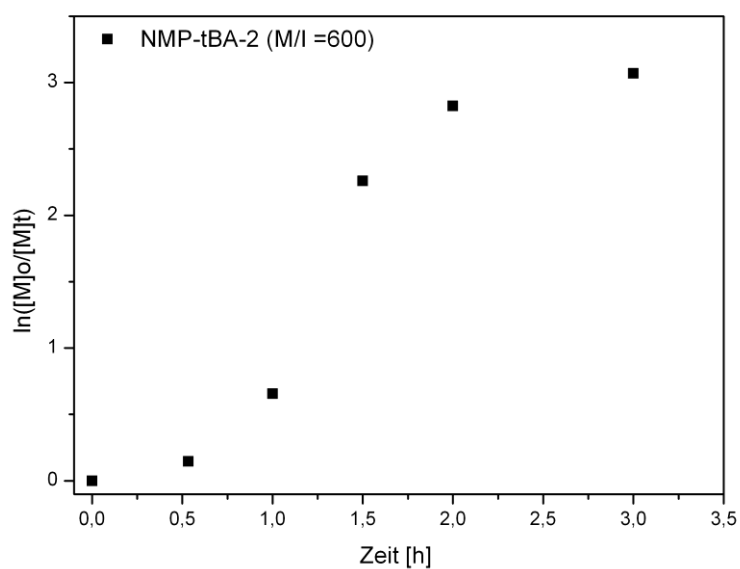


Abbildung 11.1: Auftragung von  $\ln([M]_0/[M]_t)$  gegen die Zeit der NMP von tBA mit BIPNO mit einem  $[M]/[I]$ -Verhältnis von 600 (NMP-tBA-2).

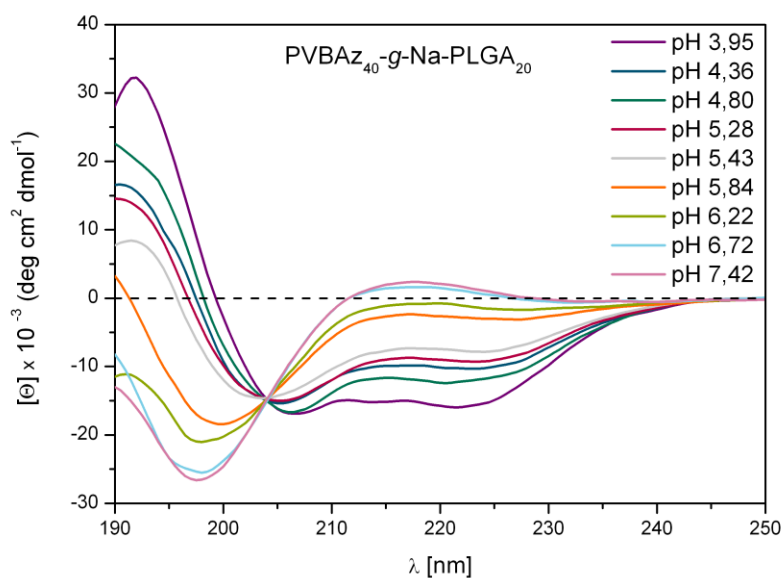


Abbildung 11.2: CD-Spektren in Abhängigkeit des pH-Wertes des Pfropfcopolymers PVBAz<sub>40</sub>-g-Na-PLGA<sub>20</sub>.

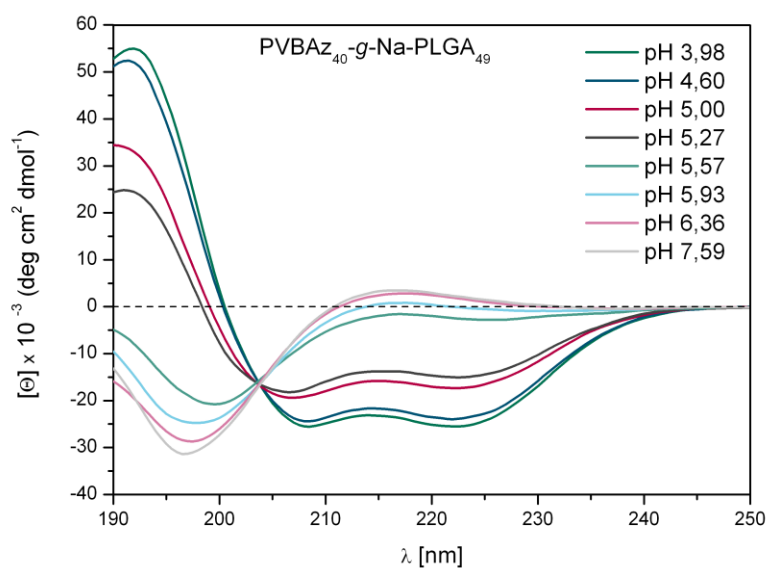


Abbildung 11.3: CD-Spektren in Abhängigkeit des pH-Wertes des Pfropfcopolymers PVBAz<sub>40</sub>-g-Na-PLGA<sub>49</sub>.

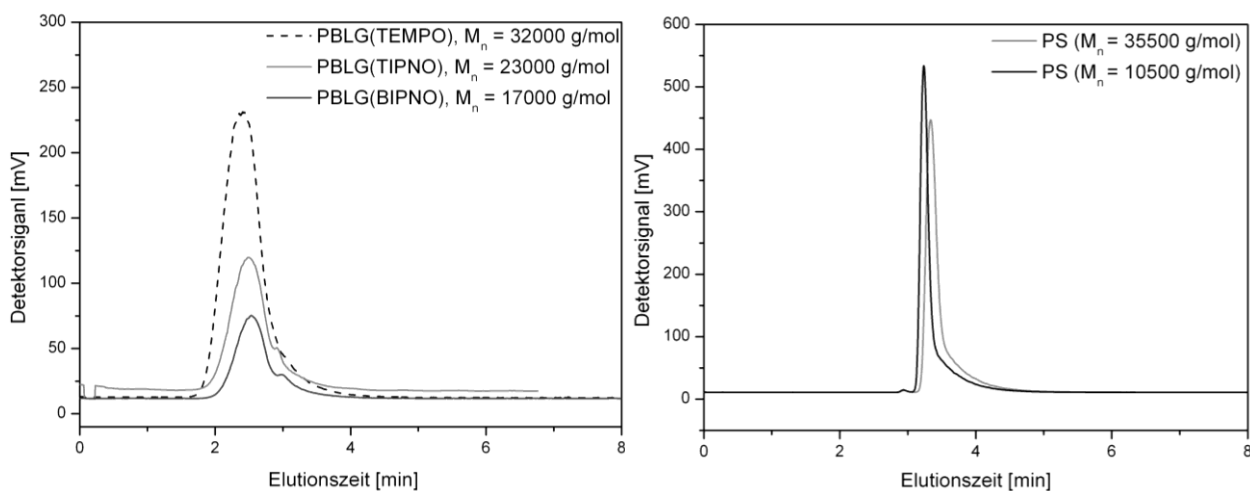


Abbildung 11.4: LACCC-Elutionskurven der Homopolymere PBLG mit  $M_n = 17000$ ,  $23000$  und  $32000$  g/mol (links) und PS mit  $M_n = 10500$  und  $35500$  g/mol (rechts). Kritische Bedingungen der Chromatographie von 0 bis 3,5 min ein Lösungsmittelgemisch von 53:47 und ab 3,5 bis 5 min graduelle Erhöhung auf 60:40 für THF/ACN.